

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 27 April 2001 (27.04.01)	
International application No. PCT/JP00/05772	Applicant's or agent's file reference H782-PCT
International filing date (day/month/year) 25 August 2000 (25.08.00)	Priority date (day/month/year) 26 August 1999 (26.08.99)
Applicant KAKIMOTO, Tatsuo	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

13 March 2001 (13.03.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer R. Forax Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**IS PAGE BLANK (USPTO)**

101069781  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

RECEIVED

JUN 20 2002

TECH CENTER 1600/2900

Applicant's or agent's file reference H782-PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/05772	International filing date (day/month/year) 25 August 2000 (25.08.00)	Priority date (day/month/year) 26 August 1999 (26.08.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/54, 9/12, 5/14, A01H 5/00		
Applicant SUNTORY LIMITED		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 13 March 2001 (13.03.01)	Date of completion of this report 21 December 2001 (21.12.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

RECEIVED

1991

1991

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/05772

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/JP 00/05772

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-12	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

Document 1: Tanpakushitsu Kakusan Koso [Protein, Nucleic Acid, Enzyme], Vol. 42, No. 5 (1997), pp. 727-735

Claims 1-12

The inventions set forth in Claims 1-12 do not involve an inventive step in the light of Document 1, cited for the first time in the written opinion.

Document 1 discloses use of activation tagging for screening mutants which participate in cytokine signal transduction, together with the identification of two CKI mutants (mutant CKI1 and mutant CKI2) with T-DNA inserts and the isolation of a gene for CKI1 from the CKI1 mutant.

Comparing the invention set forth in Claim 1 with the invention disclosed in Document 1, they differ in that Claim 1 discloses the isolation of the gene for CKI2, whereas Document 1 does not disclose said isolation. However, having isolated a CKI1 gene from one mutant, CKI1, of two mutants identified at the same time by using activation tagging, a person skilled in the art could easily deduce the isolation of a CKI2 gene from the other mutant, CKI2.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**





P.B.5818 - Patentlaan 2  
2280 HV Rijswijk (ZH)  
+31 70 340 2040  
TX 31651 epo nl  
FAX +31 70 340 3016

**Europäisches  
Patentamt**

Zweigstelle  
in Den Haag  
Recherchen-  
abteilung

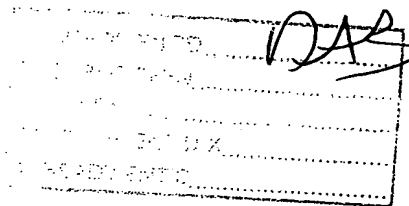
**European  
Patent Office**

Branch at  
The Hague  
Search  
division

**Office européen  
des brevets**

Département à  
La Haye  
Division de la  
recherche

Stoner, Gerard Patrick  
MEWBURN ELLIS  
York House  
23 Kingsway  
London WC2B 6HP  
GRANDE BRETAGNE



Datum/Date

06.05.03

Zeichen/Ref./Réf.

GPS/FP5997143

Anmeldung Nr./Application No./Demande n°/Patent Nr./Patent No./Brevet n°.

00955046.8-2406-JP0005772

Anmelder/Applicant/Demandeur/Patentinhaber/Proprietor/Titulaire

SUNTORY LIMITED, et al

## COMMUNICATION

The European Patent Office herewith transmits as an enclosure the European search report for the above-mentioned European patent application.

If applicable, copies of the documents cited in the European search report are attached.

☒ Additional set(s) of copies of the documents cited in the European search report is (are) enclosed as well.

## REFUND OF THE SEARCH FEE

If applicable under Article 10 Rules relating to fees, a separate communication from the Receiving Section on the refund of the search fee will be sent later.



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



European Patent  
Office

**SUPPLEMENTARY  
EUROPEAN SEARCH REPORT**

Application Number  
**EP 00 95 5046**

**DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)
X	CHANG: "Report on the 8th International Arabidopsis Conference, madison, Wisconsin, USA" INTERNET, 'Online! 25 - 29 June 1997, XP002238231 Retrieved from the Internet: <URL:weedsworld.arabidopsis.org.uk/Vol14ii/chang.html> 'retrieved on 2003-04-14! Session 4: Hormone Signalling * paragraph '0003! *	1-12	C12N15/54 C12N9/12 C12N5/14 A01H5/00
T	HWANG ILDOO ET AL: "Two-component signal transduction pathways in Arabidopsis." PLANT PHYSIOLOGY (ROCKVILLE), vol. 129, no. 2, June 2002 (2002-06), pages 500-515, XP002238232 June, 2002 ISSN: 0032-0889 * the whole document *	1-12	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7)  C07K C12N
The supplementary search report has been based on the last set of claims valid and available at the start of the search.			
Place of search <b>MUNICH</b>		Date of completion of the search <b>14 April 2003</b>	Examiner <b>Weikl, M</b>
<b>CATEGORY OF CITED DOCUMENTS</b>  X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document  T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons  & : member of the same patent family, corresponding document			

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 H782-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JPO0/05772	国際出願日 (日.月.年) 25.08.00	優先日 (日.月.年) 26.08.99	
出願人(氏名又は名称) サントリー株式会社			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。  
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。  
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、  
第 2 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☐ なし  
☒ 出願人は図を示さなかった。  
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/54, C12N9/12, C12N5/14, A01H5/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/54, C12N9/12, C12N5/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)  
MEDLINE (STN) Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Tatsuo Kakimoto, "CKI1, a Histidine Kinase Homolog Implicated in Cytokinin Signal Transduction", Science, Vol. 274, p. 982-985, (1996)	1-12
A	Ingrid B. et al., "Two genes with Similarity to Bacterial Response Regulators are rapidly and specifically induced by Cytokinin in Arabid opsis", The Plant Cell, Vol. 10, p. 1009-1019, (1998)	1-12

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20. 11. 00

国際調査報告の発送日

28.11.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

甲斐 順子

印

4N

9641

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



10/069,381  
特許協力条約

ST

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 28 DEC 2001

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 H782-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/05772	国際出願日 (日.月.年) 25.08.00	優先日 (日.月.年) 26.08.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl' C12N 15/54, 9/12, 5/14, A01H 5/00		
出願人(氏名又は名称) サントリー株式会社		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。  
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で                      ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  
I ☒ 国際予備審査報告の基礎  
II ☐ 優先権  
III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成  
IV ☐ 発明の単一性の欠如  
V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明  
VI ☐ ある種の引用文献  
VII ☐ 国際出願の不備  
VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 13.03.01	国際予備審査報告を作成した日 21.12.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 平田 和男 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	4N 2937

様式PCT/IPEA/409(表紙)(1998年7月)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                                     |   |       |        |                       |
|-------------------------------------|---|-------|--------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | PCT 19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | _____ 付の書簡と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの  |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1 - 12 有  
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 有  
請求の範囲 1 - 12 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 有  
請求の範囲 1 - 12 無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: 蛋白質 核酸 酵素, Vol. 42, No. 5(1997)p. 727-735

請求の範囲1-12

請求の範囲1-12に記載された発明は、見解書で新たに引用された上記文献1に対して進歩性を有しない。

上記文献1には、サイトカインの情報伝達に関与する変異体をアクティベーションタギング法によりスクリーニングして、T-DNAが挿入された2種のCKI変異体(CKI1変異体及びCKI2変異体)を取得し、さらにCKI1変異体から遺伝子CKI1を単離している旨記載されている。

請求の範囲1に記載の発明と上記文献1に記載の発明を対比すると、請求の範囲1に記載の発明では遺伝子CKI2を単離している一方、上記文献1では単離されていない点で相違するが、アクティベーションタギング法により同時に得られた2種の変異体のうち、一方のCKI1変異体から遺伝子CKI1を単離していれば、もう一方のCKI2変異体から遺伝子CKI2を単離することは当業者であれば容易に想到しうるものである。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 3 月 8 日 (08.03.2001)

PCT

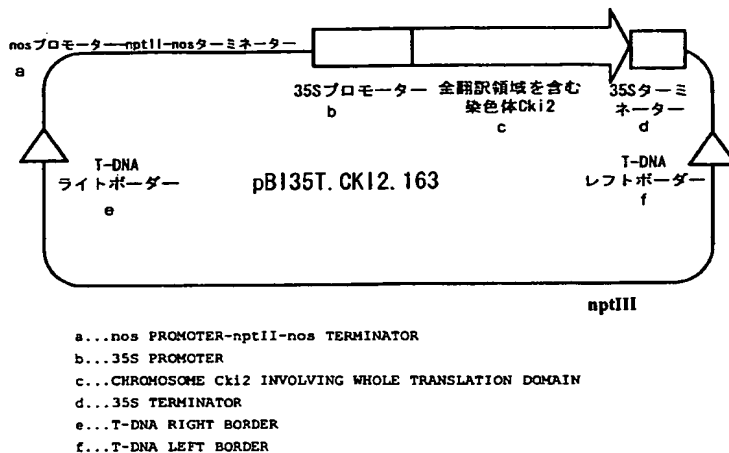
(10) 国際公開番号  
WO 01/16332 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/54, 9/12, 5/14, A01H 5/00 INDUSTRIES CO., LTD.) [JP/JP]; 〒114-0002 東京都北区王子1丁目4番1号 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/05772
- (22) 国際出願日: 2000 年 8 月 25 日 (25.08.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願平11/240433 1999 年 8 月 26 日 (26.08.1999) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): サントリー株式会社 (SUNTORY LIMITED) [JP/JP]; 〒530-8203 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 柿本辰男 (KAKI-MOTO, Tatsuo) [JP/JP]; 〒560-0005 大阪府豊中市西緑丘2-2-223 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA, Takashi et al.); 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37 森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AU, CA, JP, NZ, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (71) 出願人 (オーストラリア, 日本, ニュージーランドについてのみ): 日本製紙株式会社 (NIPPON PAPER 添付公開書類:  
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: GENE ENCODING PROTEIN PARTICIPATING IN SIGNAL TRANSDUCTION OF CYTOKININ

(54) 発明の名称: サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子



(57) Abstract: A gene originating in, for example, *Arabidopsis thaliana*, having an amino acid sequence represented by SEQ ID NO:2, and encoding a protein which participates in the signal transduction of cytokinin. This gene is usable in producing the above protein. By transferring into a plant, moreover, it is usable for the regeneration, differentiation, growth, etc. of the plant.

(57) 要約:

例えばシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) に由来し、配列番号: 2 に示すようなアミノ酸配列を有し、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子が提供される。この遺伝子は、前記蛋白質の製造のために利用できるほか、植物に導入することにより、植物の再生、分化、成長等のために利用できる。

WO 01/16332 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。



## 明 細 書

サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子

## 発明の分野

本発明はサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子ならびにその利用方法に関するものである。

## 背景技術

サイトカイニンは植物の形態形成や生理現象において重要な役割を果たす植物ホルモンの一種で、6-アミノプリンの6位のアミノ基に、通常、炭素数5の置換基が結合した基本骨格をもち、その側鎖に様々な修飾を受けた一連の誘導体の総称である。サイトカイニンは、同じく植物ホルモンの一種であるオーキシンとの相互作用によって、組織培養系での植物の分裂や分化、新たな器官形成を制御する。器官形成に関して言えば、オーキシンはカルス、葉、莖等からの根の形成を促進するのに対して、サイトカイニンは、芽の形成を促進する。サイトカイニンを通常の植物体に与えた場合、側芽の伸長促進、根の成長阻害、花、葉、果実等の老化防止などの効果を示す。種子に与えた場合、植物種によっては発芽促進効果を持つ。

以上のような様々な生理作用は、細胞によるサイトカイニンの受容と細胞内化学信号への変換、その信号の伝達、そしてその下流に位置する様々な標的遺伝子の発現制御の結果と考えられる。

サイトカイニン合成系の調節が、サイトカイニンの示す様々な生理機能の制御につながっていることは明白であるにも関わらず、植物においてサイトカイニンの合成がどのような分子機構によって制御されるのかは明らかではない。

サイトカイニンの情報伝達系に関しては、最近、少なくともその一部に2成分制御系(two-component system)によるリン酸基転移反応が関与することが、明らかにされた(Kakimoto, Scinece, 274, p982-985, 1996、柿本、細胞工学、別冊植物細胞工学シリーズ10、p75-84、1998)。2成分制御系とは原核生物に多く存在する情報伝達系であり、基本的にはセンサー・ヒスチジンキナーゼとレスポンスレギュレーターと呼ばれる2つの蛋白質が関与している。

多くのヒスチジンキナーゼは、そのN末端領域で細胞膜を貫通しており、このN末端領域が外界シグナルを受容するが、細胞質局在型のヒスチジンキナーゼでは、受容体からの情報を仲介する役割を果たすものが多い。センサー・ヒスチジンキナーゼのインプットドメインがシグナルを感知すると、そのヒスチジンキナーゼドメイン中の特定のヒスチジン残基がリン酸化される。続いて、このリン酸基は2成分制御系のもう一方の蛋白質であるレスポンスレギュレーターの特定のアスパラギン酸残基へ転移され、このリン酸化の有無がその下流の情報伝達系や標的遺伝子の発現調節へとつながっていく。

2成分制御系によっては、リン酸基はセンサー・ヒスチジンキナーゼから、一旦リン酸基転移メディエーターと呼ばれる蛋白質に移され、最終的にレスポンスレギュレーターに移される場合もある。例えば酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)の浸透圧調節系では、リン酸基はセンサー・ヒスチジンキナーゼである浸透圧受容体SLN1から、リン酸基転移メディエーターであるYPD1へ移され、次にレスポンスレギュレーターであるSSK1に移される。原核生物が多くの2成分系を介した情報伝達機構をもつことは知られているが、最近真菌や植物でも2成分制御系因子が重要な働きをしていることが分かってきた。例えば、酵母の浸透圧調節系や植物のエチレン情報伝達系

等である。

そこで、本発明者は、サイトカイニンの合成、または情報伝達系に関与する遺伝子の転写量が増大すれば、サイトカイニン非存在下でもサイトカイニン応答が引き起こされるのではないかと考え、アクティベーションタギング (activation tagging) をおこなった。これは、植物ゲノムにランダムにエンハンサー配列を導入することにより、挿入エンハンサー近くの植物遺伝子の転写を活性化し、優性の突然変異体を得る方法である。本発明者は、アクティベーションタギング用に開発されたベクター pPCVICEn4HPT (Hayashi et al., Science, 258, p1350-1353, 1992) で約5 万個以上のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) のカルスを形質転換した。

pPCVICEn4HPTにはT-DNA 上にカリフラワーモザイクウイルス35S RNA 遺伝子のエンハンサー由来の強力なエンハンサー配列が配置されており、アグロバクテリウムを介して植物のゲノムに挿入された後に、このエンハンサーに隣接する遺伝子の転写が活性化される。例えば、サイトカイニンの合成系、受容、情報伝達系に関する遺伝子の近傍にT-DNA が挿入されれば、この形質転換体はサイトカイニン非存在下でも典型的なサイトカイニン応答を示すことが期待される。発明者は形質転換された5 万個以上のカルスを植物ホルモンを含まない培地で培養し、典型的なサイトカイニン応答である細胞増殖、不定芽形成を示した形質転換カルス4 系統を分離した。

これらをサイトカイニン非要求性突然変異体 (cytokinin independent; cki1) と名付けた。これらは細胞増殖、不定芽形成、緑化を示し、根を形成せず、不稔であった。これら4 系統では同一遺伝子の上流にT-DNA が挿入されており、原因遺伝子CK11の解析の結果、CK11遺伝子のコードする蛋白質は2 成分制御系のセンサー・ヒスチジンキナーゼに特徴的な配列を有し、N 末端には膜貫通領域と思

われる疎水性の領域が2 個所存在した。

CKI1を植物体で過剰発現させると典型的なサイトカイニン応答を引き起こすことが示された (Kakimoto, Science 274: 982-985, 1996)。また、CKI1遺伝子を酵母で発現させると、酵母において浸透圧調節の2 成分制御系因子であるYPD1ヘリン酸基を転移することを示唆する結果も得られている。これらのことから、CKI1はサイトカイニンの受容体であり、サイトカイニンの刺激をリン酸基転移という化学信号へ変換し、下流の因子へ伝達する機能をもつことが示唆された。

また、梶原ら (Plant J, 14, p337-344, 1998 ) によってトウモロコシの葉をサイトカイニンで処理することによって発現が誘導される遺伝子ZmCiplや、シロイヌナズナをサイトカイニンで処理することにより発現誘導されるIBC6等の遺伝子が、2 成分制御系のレスポンスレギュレーターをコードすることが報告されており、サイトカイニン情報伝達系においても2 成分制御系が関与すると考えられる。以上の事実は、これらレスポンスレギュレーターはサイトカイニン受容体であるヒスチジンキナーゼの下流で働いている可能性を示している。

しかしながら、サイトカイニンの情報伝達系が、上記のCKI1やZmCipl蛋白質によってどのように構成されているかは未だ明らかではない。例えば、サイトカイニン受容体候補のヒスチジンキナーゼCKI1から下流のレスポンスレギュレーターへのリン酸基転移に、リン酸基転移メディエーターが関わっているのかどうかは不明である。また、複数のサイトカイニン受容体が存在し、複数の並行した情報伝達系が独立して、あるいはこれら情報伝達系の間で相互に影響を及ぼしながらサイトカイニンの情報が伝達されていくかどうか不明であり、今後解決すべき課題のひとつである。

## 発明の開示

そこで本発明は、サイトカイニンの情報伝達系に関与する2成分制御系の新たな因子およびそれをコードする遺伝子及びそれによりコードされる蛋白質、並びにその用途を提供しようとするものである。

本発明者は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いてアクティベーションタギングを行い、サイトカイニンの情報伝達系に関与する2成分制御系の因子をコードする新たな遺伝子を得た。

従って本発明は、サイトカイニンの情報伝達系に関与する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。具体的には、この遺伝子は、2成分制御系のヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードするものである。この遺伝子がコードする蛋白質は細胞質に可溶性であると予測され、そのような性質のヒスチジンプロテインキナーゼをコードする遺伝子は、植物では未報告である。

より具体的には、本発明は配列番号：2に記載のアミノ酸配列を有し、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。本発明はまた、配列番号：2において1又は複数のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有し、且つサイトカイニン情報伝達に関与する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。本発明はさらに、配列番号：1に記載する核酸、特にDNA又はその部分とハイブリダイズし、且つサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質、特にヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。

本発明はまた、上記遺伝子を含んでなるベクターを提供する。

本発明はさらに、上記ベクターにより形質転換された宿主を提供する。この宿主は植物細胞であっても、植物体であってもよい。

本発明はまた、上記宿主を培養、栽培することによる、サイトカイニンの情報伝達に關与する蛋白質の製造方法を提供することができる。

本発明はまた、上記遺伝子を植物又は植物細胞に導入し、該遺伝子を発現せしめることによる植物又は植物細胞の成長を調節する方法を提供することができる。即ち、本遺伝子を発現させることにより、不定芽の形成を促進、側芽の休眠打破、花や葉の老化・果実の成熟防止、花の日持ち性向上や光合成機能の維持、果実の肥大促進・落下防止、花形成の制御等のサイトカイニンが關与する様々の生理作用を調節することができる。

#### 図面の簡単な説明

図1は、プラスミド p B I 3 5 T の構造を示す略図である。

図2は、プラスミド p B I 3 5 T . C K I 2 . 1 6 3 の構造を示す略図である。

図3は、プラスミド p B I 3 5 T . C K I 2 . 1 6 2 の構造を示す略図である。

図4は、プラスミド p E L 2    o m e g a 3 5 T の構造を示す略図である。

図5は、プラスミド p E L 2    o m e g a 3 5 T . C K I 2 . 1 6 3 の構造を示す略図である。

図6は、プラスミド p E L 2    o m e g a 3 5 T . C K I 2 . 1 6 2 の構造を示す略図である。

#### 発明の実施の形態

発明者らは、CKII遺伝子を単離した際と同様のアクティベーションタギング (activation tagging) によって、サイトカイニンの情

報伝達系に關与する新たなタンパク質遺伝子により変異が導入されたものが得られるのではないかと考えた。そこで、アクティベーションタギング用ベクターpPCVICEn4HPTをアグロバクテリウムを介して導入したシロイヌナズナ形質転換体カルスをサイトカイニンを含まない培地上でスクリーニングし、サイトカイニン非存在下でも不定芽を形成した突然変異体を分離した。このうち、cki2と名付けた変異体カルスは、野性株のカルスとは異なり、サイトカイニン非存在下でも盛んに細胞増殖を行い、不定芽を形成することができた。

cki2変異体からCKI2遺伝子ならびにCKI2 cDNA を単離し解析した結果、CKI2遺伝子は2成分制御系の植物のヒスチジンプロテインキナーゼと相同なタンパク質をコードすることが明らかとなった。特に高い相同性は、ヒスチジンプロテインキナーゼの2つの機能性領域である、ヒスチジンキナーゼドメインとレシーバードメインに見られた。

cki2変異株の表現型は、サイトカイニン非存在下でも不定芽を形成するという点では既に公知のcki1変異株と類似しているが、CKI2とCKI1蛋白質の全体構造並びにアミノ酸配列は、機能の異なるヒスチジンキナーゼ間の一般的な相同性のレベルであり、CKI2とCKI1が特に高い相同性を示すものではない。

また、予測されるタンパク質は、全体構造と細胞内局在性にも大きな違いがある。

CKI2 cDNA の一部をシロイヌナズナカルスに導入し過剰発現させたところ、cki2変異体の表現型からも推測されるように、形質転換体では培地中のサイトカイニンの有無に関わらず盛んな細胞増殖を行い、不定芽を形成することができた。以上のことから、CKI2遺伝子はサイトカイニンの情報伝達に關与する新たなヒスチジンプロテインキナーゼをコードすることが明らかになった。

本発明の遺伝子としては、例えば、配列番号：2に記載のアミノ酸配列をコードするものが挙げられる。しかしながら、複数のアミノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸による置換によって修飾されたアミノ酸配列を有するタンパク質ももとのタンパク質と同様の活性を維持することが知られている。従って本発明は、配列番号：2に記載のアミノ酸配列に対して1個または複数のアミノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸との置換によって修飾されたアミノ酸配列を有し、且つサイトカイニンの情報伝達に關与する蛋白質特にヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードする修飾された遺伝子も本発明に属する。

ここで、この修飾の程度は、本件出願の前に周知技術となっている手段、例えば部位特定変異誘発、PCR法等により可能な程度である。ヒスチジンプロテインキナーゼ活性を維持しながら修飾の対象となるアミノ酸の数は、例えば100個以下、例えば50個以下、好ましくは25個以下、例えば10個以下である。

本発明はまた、配列番号：1に記載の塩基配列を有する核酸例えばDNA、又はその部分と、ストリンジエント条件下でハイブリダイズすることができ、且つヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードするDNAからなる遺伝子を提供する。ここでストリンジエント条件とは、例えば5xSSC、50℃の条件下でハイブリダイズする条件をいう。なお適切なハイブリダイゼーションの温度は塩基配列やその塩基配列の長さによって異なり、適宜選択して実施することができる。

また、上記の核酸の部分とは、少なくとも数個の連続するアミノ酸配列をコードする部分であり、好ましくはヒスチジンキナーゼドメインあるいはレシーバードメイン内の連続する数個のアミノ酸配列をコードする部分である。例えば、よく保存されている配列とし



て知られている配列を使用することができる (Albright et al. Annu. Rev. Genet. 23, p311-336, 1989、Mizuno, J. Biochem. 123, p555-563, 1998)。より好ましくは、配列番号：1 に記載の配列のうち、ヒスチジンキナーゼドメインあるいはレシーバードメインの配列の一部又は全てを含み、且つ配列番号：1 に記載の全コード配列に対して、25%以上、例えば50%以上、さらに好ましくは75%以上の長さを有する部分又は断片を意味する。

上記ハイブリダイゼーションの対象としての遺伝子源としては、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質、特にヒスチジンプロテインキナーゼを有する植物、微生物などから調製されるcDNAライブラリー、ゲノムDNA ライブラリー等を使用することができ、例えば、植物としてシロイヌナズナ、トウモロコシ、ポプラ、ペチュニア、タバコ、イネ、トマト、ユーカリ等が挙げられる。

このようにして得られる、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子の塩基配列は、配列番号：1 に示す塩基配列に対して、50%以上、60%以上、好ましくは70%以上又は80%以上、例えば90%以上の相同性を有する。

配列番号：2 に示すアミノ酸配列を有する蛋白質をコードする本遺伝子は、cDNAまたはゲノムDNA として、シロイヌナズナから得ることができる。

生来の塩基配列を有する遺伝子は実施例に具体的に示すように、例えばcDNAライブラリーのスクリーニングによって得られる。また、修飾されたアミノ酸配列を有する蛋白質をコードするDNA は生来の塩基配列を有するDNA を基礎として、常用の部位特定変異誘発やPCR 法を用いて合成することができる。例えば修飾を導入したいDNA 断片を生来のcDNAまたはゲノムDNA の制限酵素処理によって得、これを鋳型にして、所望の変異を導入したプライマーを用いて部位

特異的変異誘発またはPCR法を実施し、所望の修飾を導入したDNA断片を得る。その後、この変異を導入したDNA断片を目的とする蛋白質の他の部分をコードするDNA断片と連結すればよい。

あるいはまた、短縮されたアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNAを得るには、例えば目的とするアミノ酸配列より長いアミノ酸配列、例えば全長アミノ酸配列をコードするDNAを所望の制限酵素により切断し、その結果得られたDNA断片が目的とするアミノ酸配列の全体をコードしていない場合は、不足部分の配列からなるDNA断片を合成し、連結すればよい。

得られた遺伝子を大腸菌および酵母での遺伝子発現系を用いて発現させることにより、遺伝子産物であるヒスチジンプロテインキナーゼを得ることができる。あるいはまた、配列番号：2に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質に対する抗体を用いても、ヒスチジンプロテインキナーゼを得ることができ、抗体を用いて他の生物のヒスチジンプロテインキナーゼをクローン化することもできる。

従って本発明はまた、前述の遺伝子を含む組換えベクター、特に発現ベクター、及び当該ベクターによって形質転換された宿主に関するものである。宿主としては、原核生物または真核生物を用いることができる。原核生物としては細菌、例えばエシェリヒア (Escherichia) 属に属する細菌、例えば大腸菌 (Escherichia coli)、バシルス (Bacillus) 属微生物、例えばバシルス、スプシルス (Bacillus subtilis) など常用の宿主微生物を用いることができる。

真核性宿主としては、下等真核生物、例えば真核性微生物である酵母または糸状菌が使用できる。酵母としては例えばサッカロミセス (Saccharomyces) 属微生物、例えばサッカロミセス、セレビシエ (Saccharomyces cerevisiae) 等が挙げられ、また糸状菌としてはアスペルギルス (Aspergillus) 属微生物、例えばアスペルギルス。

オリゼ (Aspergillus oryzae)、アスペルギルス・ニガー (Aspergillus niger)、ペニシリウム (Penicillium) 属微生物が挙げられる。さらに動物細胞または植物細胞が使用でき、動物細胞としては、マウス、ハムスター、サル、ヒト等の細胞系が使用される。植物細胞としては、タバコの培養細胞、ポプルス属、ユーカリ属、アカシア属等の培養細胞が使用できる。

さらに昆虫細胞、例えばカイコ細胞、またはカイコの成虫それ自体も宿主として使用される。具体的には、昆虫細胞、例えばヨガ細胞 (Spodoptera frugiperda)、キャベツルーパー細胞 (Trichoplusia ni)、カイコ細胞 (Bombyx mori)、動物細胞、例えばヒト細胞、サル細胞、マウス細胞等、具体的にはCOS 細胞、Vero細胞、CHO 細胞、L 細胞、C127細胞、BALB/c 3T3細胞、Sp-2/0細胞等を用いることもできる。

発現ベクターとしては、プラスミド、ファージ、ファージミド、ウィルス (バキュロ (昆虫)、ワクシニア (動物細胞)) 等が使用できる。

本発明の発現ベクターはそれらを導入すべき宿主の種類に依存して発現制御領域、例えばプロモーターおよびターミネーター、複製起点等を含有する。細菌用発現ベクターのプロモーターとしては、常用のプロモーター、例えばtrc プロモーター、tac プロモーター、lac プロモーター等が使用され、酵母用プロモーターとしては、例えばグリセルアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼプロモーター、PH05プロモーター、adhIプロモーター、pqq プロモーター等が使用され、糸状菌用プロモーターとしては例えばアミラーゼプロモーター、trpCプロモーター等が使用される。

また、昆虫用プロモーターとしてはバキュロウィルスポリヘドリンプロモーター等、動物細胞用プロモーターとしてはSimian Virus

40 のearly およびlateプロモーター、CMV プロモーター、HSV-TK プロモーターまたはSR $\alpha$ プロモーター等が挙げられる。植物用プロモーターとしては、カリフラワーモザイクウイルスの35S プロモーター、ノバリン合成酵素のプロモーター、誘導型プロモーターとしては、グルタチオン-S-トランスフェラーゼII系遺伝子のプロモーター、hsp80 プロモーター、リブローズ 2 リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット遺伝子のプロモーター等が挙げられる。

また、発現ベクターには、以上の他にエンハンサー、スプライシングシグナル、ポリA付加シグナル、選択マーカー（例えばジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子（メトトレキセート耐性）、neo 遺伝子（G418耐性）等）等を含んでいるのを用いるのも好ましい一態様である。なお、エンハンサーを使用する場合、例えばSV 40 のエンハンサー等を遺伝子上流または下流に挿入する。

発現ベクターによる宿主の形質転換は、当業者においてよく知られている常法により行うことができ、これらの方法は例えば、Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley & Sons 社、1995年、に記載されている。形質転換体の培養も常法に従って行うことができる。培養物からのサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質の精製は、タンパク質を単離・精製するための常法に従って、例えば、限外ろ過、各種カラムクロマトグラフィー、例えばセファロースを用いるクロマトグラフィー等により行うことができる。

現在の技術水準をもってすれば、さらに、このcDNAあるいは遺伝子を構成的なあるいは誘導型のプロモーターの制御下に連結し、アグロバクテリウムを用いるシステムあるいはパーティクルガン、エレクトロポレーション等を用いるシステムで、この遺伝子を植物に導入し発現させることで、植物ホルモンによる人為調節によっても個体再生が困難な植物、例えば、バラなどにおいても、不定芽形

成を促進することが可能である。さらに、CKI2遺伝子の発現を制御することで、サイトカイニンが植物体において示す様々な生理作用、例えば、側芽の伸長や老化防止、花形成時期、果実の肥大促進、果実の落下防止などを調節することが可能である。

## 実施例

以下、実施例に従って、発明の詳細を述べる。分子生物学的手法は特に断らない限り、Molecular Cloning (Sambrook et al. 1989) に依った。

### 実施例 1. サイトカイニン応答突然変異体のスクリーニング

サイトカイニンの合成または情報伝達系に関与した遺伝子の転写量を増大させ、サイトカイニン非存在下でもサイトカイニン応答を示す突然変異体を得るため、シロイヌナズナ (Arabidopsis thaliana) Wassileuskija (WS株) を用いてアクティベーションタギングを行った。

50,000個以上のシロイヌナズナWS株のカルスを実験の方法 (Akama et al., Plant Cell Rep., 12, 7-11, 1992) に従い、アクティベーションタギング用ベクター pPCVICEn4HPT (Hayashi et al., Science, 258, p1350-1353, 1992) で形質転換した。なお、pPCVICEn4HPTにはカリフラワーモザイクウイルス 35 S RNA 遺伝子プロモーターに由来する強力なエンハンサー配列が存在し、植物のゲノムに挿入された後に、このエンハンサー配列に隣接する遺伝子の転写が活性化される。

形質転換されたカルスを植物ホルモンを含まない培地上で培養した。野生型シロイヌナズナカルスはサイトカイニンを含まない培地上では細胞増殖が抑えられ、不定芽形成を行うことができないが、サイトカイニンが存在すると、不定芽を形成する。しかし、形質転

換体の中には、サイトカイニンが存在しないにも関わらず、典型的なサイトカイニン応答を示し、不定芽を形成したカルスが得られた。

このうち、ckil-1、ckil-2、ckil-3、ckil-4と命名した4系統は同一遺伝子の過剰発現が原因となっており、その原因遺伝子CKI1に関しては本発明者らによってすでに報告されている（Kakimoto, Science, 274: 982 - 985, 1996）。このckilの4系統に加えて、ckilと類似した表現型、すなわちサイトカイニン非存在下において、細胞増殖が野生型カルスよりも明らかに盛んで、不定芽形成を示すが、原因遺伝子がckilの原因遺伝子とは異なる突然変異体cki2を得た。

#### 実施例 2. cki2突然変異体の原因遺伝子の単離

cki2突然変異体からゲノムDNAを精製し、制限酵素SphIで消化後、T4 DNA リガーゼを用いて自己環状化を行った。これを大腸菌に導入し、アンピシリン耐性のコロニーからプラスミドを精製した。このプラスミドは、T-DNA とcki2突然変異体のゲノム中、T-DNA の right border (RB) に隣接するDNA 配列を含む。

cki2突然変異体ならびに野生型シロイヌナズナWS株の植物体全体から抽出したRNA からoligotex dT-30（日本ロッシュ社）によってmRNAを精製し、これを鋳型とし、ラムダZAPII cDNAライブラリー合成キット（Stratagene 社）を用いて、Stratagene社の推奨する方法によりcDNAライブラリーを作製した。これらcki2突然変異体並びに野生型シロイヌナズナWS株のcDNAライブラリーを、前述のようにして得られたcki2突然変異体のRBに隣接するゲノム配列をプローブとしてスクリーニングした。

野生型シロイヌナズナWS株のcDNAライブラリーから得られたCKI2 cDNA の塩基配列を決定し、配列表の配列番号：1に示す。また、

それによりコードされるアミノ酸配列を配列番号：2に示す。2成分制御系のヒスチジンプロテインキナーゼと相同なアミノ酸配列をコードし、特にヒスチジンプロテインキナーゼの2つの機能性領域であるヒスチジンキナーゼドメインとレシーバードメインにおいて高い相同性を示すことが明らかとなった。例えば、エチレンの受容体と考えられているセンサー・ヒスチジンキナーゼETR1とは、ヒスチジンキナーゼドメインで35%、レシーバードメインで25%、原核生物 Pseudomonas のセンサー・ヒスチジンキナーゼである LemA とはヒスチジンキナーゼドメインで41%、レシーバードメインで26%、本発明者らにより報告されているCKI1とは、ヒスチジンキナーゼドメインで32%、レシーバードメインで26%のアミノ酸残基の同一性を示した。

なかでも、多くの2成分制御系因子間でよく保存されているアミノ酸残基はCKI2でもよく保存されていた。しかし、CKI2タンパク質のN末端約360アミノ酸からなる配列については、既知配列との有意な相同性は見出されていない。また、ETR1やCKI1などのセンサーヒスチジンキナーゼでは、N末端に膜貫通領域が存在するが、CKI2タンパク質のN末端には膜貫通領域に特徴的な疎水性領域は見出されなかった。CKI2遺伝子産物は細胞質に存在すると予測される。

cki2突然変異体のcDNAライブラリーから得られたcDNAの塩基配列を決定し、前述の野生型cDNAライブラリーから得られたCKI2のcDNAの塩基配列と比較した結果、cki2変異体ではT-DNAがCKI2のコード領域の5'末端側から249塩基と250塩基の間（翻訳開始コドンのATGのAを1番目とする）に挿入され、T-DNA上のエンハンサー配列の途中から転写が始まっていることが明らかとなった。このことはcki2変異体中で5'末端を欠損したCKI2遺伝子の転写産物が生じ、N末端を欠損したCKI2タンパク質が合成されていることを示す。

エンハンサー配列によって、このN末端欠損型CKI2タンパク質は構成的に生成するため、cki2変異体がサイトカニン非存在下でもサイトカニン応答を示したものと考えられた。

また、シロイヌナズナWS株のCKI2遺伝子のゲノム配列は、次のようにして決定した。まず、シロイヌナズナWS株の全ゲノムDNAを鋳型に、プライマーNo.163(5'-CGCGGATCCACCATGGTCTGTGAAATGGAGAC-3') (配列番号：7)とプライマーNo.154(5'-CCGCTCGAGTCAGTGCAAATACTGTTGCAAAC-3') (配列番号：8)を用いてPCRで増幅(LA Taq (Takara))を使用し、反応条件は、96度1分の後、96度1分、52度1分、68度3分のサイクルを4回行い、さらに96度1分、57度1分、68度3分のサイクルを26回行い、さらに68度10分反応)したCKI2遺伝子のコード領域の塩基配列を決定した。

cki2変異体のゲノムDNAをBamHIで消化し、T4-DNAリガーゼを用いて自己環状化を行った。これを大腸菌DH10B株に導入し、アンピシリン耐性を示したコロニー由来の大腸菌からプラスミドを精製した。このプラスミドは、cki2変異体のゲノム中、T-DNAのleft border (LB)に隣接するDNA配列を含む。LBに隣接したDNAはCKI2遺伝子の、T-DNA挿入点より上流のコード領域と、さらに上流のプロモーターを含むと考えられる配列も含む。このプラスミドの塩基配列の一部を決定し、配列番号：1に記載のCKI2 cDNAの配列と組み合わせることにより、CKI2のコード領域とその上流配列を含むゲノム配列を決定した。これを配列番号：3に示す。また、それによりコードされるアミノ酸配列を配列番号：4に示す。

また、同様にシロイヌナズナLandsberg erecta (Ler株)からもプライマーNo.163とプライマーNo.177(5'-GGGGTACCTCAGTGCAAATACTGTTGCAAAC-3') (配列番号：9)を用いてPCR(LA Taq (Takara))使用、94度1分の後、94度30秒、52度30秒、68度3分のサイクル



を30回行い、さらに68度7分反応)を行い、増幅されたDNAの塩基配列を決定した。この配列をWS株のCKI2のコード領域の塩基配列と比較したところ、99.6%同一であったので、これをLer株のCKI2遺伝子の配列であるとした。

このシロイヌナズナLer株のCKI2ゲノム遺伝子の塩基配列を配列番号:5に示す。予想されるエクソンの配列から予測される蛋白質のアミノ酸配列は、シロイヌナズナLer株と、WS株の間で3つのアミノ酸残基の違いがあった。これによりコードされるアミノ酸配列を配列番号:6に示す。

### 実施例3. CKI2遺伝子の過剰発現

#### i) 形質転換用バイナリーベクターの改良

植物形質転換用バイナリーベクターとして広く用いられているpBI121(Jefferson, R.A. et al., EMBO J, 6: 3901-3907, 1987)は、T-DNA領域にカリフラワーモザイクウイルス35S RNA 遺伝子のプロモーター(35Sプロモーター)とノパリン合成酵素(NOS)遺伝子のターミネーターの間にベータグルクロニダーゼ(GUS)遺伝子が配置されている。

また、pBE2113-GUS (Mitsuhara, I. et al., Plant Cell Physiol., 37: 49-59, 1996)は、pBI121を基本とし、プロモーターの活性を増強するためにエンハンサー配列が追加され、さらに翻訳促進配列オメガが付加されている。

pBI121またはpBE2113-GUSを用いて特定の遺伝子を植物で過剰発現するためには、二種類の制限酵素を用いてGUS遺伝子を除き、代わりにその部分に特定の遺伝子をクローン化する。しかしながら、pBI121でもpBE2113GUSでもGUS遺伝子を除くために用いる酵素のうちGUS遺伝子の3'側を切断する酵素としてはSacIしか用いることができないので、新しいクローニング部位を導入することにした。

また、pBI121およびpBE2113-GUS のどちらにもNOS 遺伝子のターミネーター配列が二カ所に存在し、一つのベクター内に同一の配列があることは、アグロバクテリア内や、形質転換植物内でのT-DNAの安定性を低下させる恐れがある。そこで、これらそれぞれのベクターからGUS 遺伝子とその下流に存在するNOS 遺伝子のターミネーター配列を除き、替わりにカリフラワーモザイクウイルス35S RNA 遺伝子のターミネーター(35Sターミネーター)を挿入した。

プラスミドpl'barbi (Mengiste, T., Plant J., 12:945-948, 1997)を鋳型とし、プライマーとしてプライマーNo.271(5'-TACCCGGGGG TACCGTCGACCTGCAGGCATGCC-3') (配列番号: 10) 及びプライマーNo.272 (5'-AAACGACGGCCAGTGAATTCGAGTTCGGCACC-3') (配列番号: 11) を用いて増幅 (LA Taq (Takara) 使用、94度1分反応後、94度30秒、52度30秒、68度30秒のサイクルを15回行い、68度3分反応) したDNA(35Sターミネーターを含む)をSmaIとEcoRIで処理したDNA断片と、pBI121からGUS 遺伝子とNOS 遺伝子のターミネーターをSmaIとEcoRI 処理により除いたDNA断片とをライゲーションし、これをpBI35T (図1) と名付けた。

pBI35Tにおいて、35S プロモーターと35Sターミネーターの間にあるマルチクロニングサイト中のユニークサイトは、35S プロモーターに近い側からXbaI, BamHI, KpnI, SalI となる。また、同様にpl'barbiを鋳型に、プライマーとしてプライマーNo.271とプライマーNo.272を用いて増幅したDNA(35Sターミネーターを含む)をSmaIとEcoRIで処理したDNA断片と、pBE2113-GUS からGUS 遺伝子とNOS 遺伝子のターミネーターをSmaIとEcoRI 処理により除いたpBE2113-GUS 由来のDNA断片をライゲーションし、pEL2omega35T (図4) を得た。pEL2omega35T中の、強化された35S プロモーターと35Sターミネーターの間のマルチクロニングサイト中のユニークサイ

トは、35S プロモーターに近い側から、XbaI, BamHI, KpnI, SalI である。

ii) CKI2遺伝子発現のためのプラスミド作製

CKI2のcDNAを含む大腸菌は生育が悪かったので35S プロモーターの下流にクローン化するのは難しいと予測された。そこで、CKI2遺伝子の全体、あるいは一部を植物で過剰発現するための実験にはCKI2のゲノムDNA を用いることにした。そこで、Lambda TI2ベクターに構築されたシロイヌナズナLer 株のゲノムライブラリー (Fuse, T. et al., Plant J. 7:849-856, 1995)をスクリーニングし、CKI2遺伝子を含むクローン (LambdaTi.CKI2-2) を単離した。

このクローンのCKI2のコード領域の配列は配列番号：5 に一致している。LambdaTi.CKI2-2 を鋳型に、プライマーNo.163とプライマーNo.177を用いてPCR で増幅 (LA Taq (Takara) 使用, 94度1 分で反応後、94度30秒、50度 30 秒、68度3 分のサイクルを13回行い、さらに68度7 分反応) し、pCR-ScriptSK(+) の、制限酵素srfl認識部位に平滑末端でクローン化し、プラスミドpCKI2.3LD1を得た。pCKI2.3LD1のCKI2遺伝子部分の塩基配列はシロイヌナズナLer 株のCKI2遺伝子の塩基配列と一致した。

pCKI2.3LD1をKpnIとBamHI で切断後、CKI2遺伝子を含む断片を、pBI35T のKpnIサイトとBamHI サイトの間および、pEL2omega35TのKpnIサイトとBamHI サイトの間にクローン化し、それぞれ、pBI35T.CKI2.163 (図2)、pEL2omega35T.CKI2.163 (図5) と名づけた。この二つのクローンにはCKI2遺伝子のコード領域の全体が、35S プロモーターに対してセンス方向にクローン化されている。

また、LambdaTi.CKI2-2 を鋳型に、プライマーNo.162 (5'-CGCGGATCCACCATGCTTGAGGCGAGTACTG-3') (配列番号：12) とプライマーNo.177を用いてPCR で増幅 (LA Taq (Takara) 使用, 94度1 分で反

応後、94度30秒、50度 30 秒、68度3 分のサイクルを13回行い、さらに68度7 分反応) し、pCR-Script SK(+)の、制限酵素SrfI認識部位に平滑末端でクローン化し、プラスミドpCKI2.2L16を得た。pCKI2.2L16のCKI2遺伝子部分の塩基配列はシロイヌナズナLer 株のCKI2遺伝子の塩基配列と一致した。

pCKI2.2L16をKpnIとBamHI で切断後、CKI2遺伝子の部分を含む断片を、pBI35T のBamHI サイトとKpnIサイトの間および、pEL2omega35TのBamHI サイトとKpnIサイトの間にクローン化し、それぞれ、pBI35T.CKI2.162 (図3)、pEL2omega35T.CKI2.162 (図6)と名づけた。この二つのクローンは、CKI2遺伝子がコードする蛋白質の178 番目のメチオニンからカルボキシル末端までをコードする。

CKI2遺伝子が、CKI2蛋白質の全体領域または、178 番目のメチオニン以降の領域として過剰発現することにより、サイトカイニン応答が惹起されるかどうかを調べる実験を以下のようにおこなった。シロイヌナズナWS株のカルスを、pBI35T、pBI35T.CKI2.163、pBI35T.CKI2.162、pEL2omega35T、pEL2omega35T.CKI2.163 又はpEL2omega35T.CKI2.162 のそれぞれを持つアグロバクテリアと共培養することにより形質転換し、以下の三種類の固形培地、すなわち、GM培地(4.32 g/l Murashige-Skoog salts(Sigma), 1% シュークロース、10 ml/l 5% 2-(N-モルホリノ) エタンスルホン酸(KOHによりpH 5.8 に調整)、100 mg/l イノシトール、10 mg/l チアミン-HCl, 1 mg/l ピリドキシン-HCl, 1 mg/l ニコチン酸、及び0.3% Phytage 1TM (Sigma) )に加え、50 mg/l 硫酸カナマイシン、100 mg/lセフトキシム、100 mg/lバンコマイシンと0.3 mg/lインドール酢酸を含む固形培地Z-0、これに0.1 mg/lのトランスゼアチンを加えた固形培地Z-0.1、及び1 mg/lのトランスゼアチンを加えた固形培地Z-1上で培養した。

pBI35Tで形質転換したカルスと、pEL2omega35Tで形質転換したカルスは、Z-0 培地では緑化やシュート（芽）の形成をせず、Z-0.1 培地では低頻度で緑化やシュート（芽）の形成を示し、そしてZ-1 では半数以上のカルスで緑化とシュート形成が認められた。それに対して、pBI35T.CK12.163、pBI35T.CK12.162、pEL2omega35T.CK12.163、pEL2omega35T.CK12.162 のどれで形質転換したカルスも、Z-0、Z-0.1 及びZ-1 のすべての培地でほとんどのカルスが緑化、シュート形成を行った。

これらのどのベクターで形質転換したカルスも、Z-0 及びZ-0.1 培地で最も速やかにシュートの形成を行い、これは、コントロールベクターであるpBI35TまたはpEL2omega35Tで形質転換したカルスをどのサイトカイニン濃度で培養した場合よりシュート形成が速やかな傾向にあった。

以上の結果は、CK12遺伝子の一部または全体領域のどちらを過剰発現した場合も、サイトカイニン非存在下にサイトカイニン応答を引き起こさせることを示している。

#### 実施例 4. CK12遺伝子の植物体での発現

次に、CK12遺伝子を導入した場合の、植物個体への影響について調べた。植物に導入するコンストラクトの作製は実施例 3 と同様におこなった。

具体的には、実施例 2 で得られたCK12のcDNAを鋳型にして、CK12蛋白質の178 番目のメチオニンからストップコドンまでにあたる領域をプライマーNo. 162 とプライマーNo. 177 を用いてPCR（Stratagene 社）により増幅し、これをバイナリーベクターのカリフラワーモザイクウイルス35S プロモーターの下流に挿入した。

作製したコンストラクトの塩基配列を確認したところ、そのいずれにも突然変異が存在したため、その変異塩基を含む領域を制限酵

素ScaIとSacIで消化することにより取り除き、かわりに、実施例2で得られたゲノムクローンから対応するScaIとSacIの制限酵素断片を取り出し、ライゲーションすることにより変異を修復した。このようにして作製したクローンをpTK031と名付けた。

次に、減圧浸潤法（荒木崇、植物細胞工学シリーズ4、モデル植物の実験プロトコール 109～113 ページ、秀潤社）を用いてpTK031、あるいはインサートをもたないバイナリーベクターをシロイヌナズナに導入し、得られた種子を形質転換の選択マーカであるカナマイシンを含む寒天培地に播種した。

この培地を22℃、明条件で12日間インキュベートし、観察した。その時点で、ベクターのみにより形質転換された19個体のいずれもが花茎を形成していなかったのに対して、pTK031で形質転換された45個体のうち11個体で花茎の伸長が見られた。

シロイヌナズナの場合、花茎の伸長は、花の原基形成を伴っているため、この結果により、pTK031の導入によって栄養成長期から生殖成長期への移行の時期が早まったことが明らかになった。

このように、CK12遺伝子の一部をカリフラワーモザイクウイルス35S プロモーター下にクローン化した形質転換体では、栄養成長から生殖成長への転換が極めて早く起こることが示された。従って、CK12遺伝子の全体、あるいは一部を使うことにより花成時期を人為的に調節できることが示された。

#### 産業上の利用可能性

以上のように、アクティベーションタギングによって、サイトカイニンの情報伝達系に関与するヒスチジンプロテインキナーゼをコードするCK12遺伝子をシロイヌナズナより単離した。cki2変異株ではN末端領域を欠損したCK12蛋白質が構成的に合成されていること

が原因でサイトカイニン非存在下でも細胞分裂や不定芽の形成などのサイトカイニン応答を示していることが示された。従って、CKI2遺伝子の発現制御によりサイトカイニン応答を制御できることが明らかであり、CKI2遺伝子の発現を制御することで、サイトカイニンが植物体において示す様々な生理作用を制御することが可能となった。

## 請 求 の 範 囲

1. 配列番号：2 に記載のアミノ酸配列を有し、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子。
2. 配列番号：2 に記載のアミノ酸配列に対して1個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されているアミノ酸配列を有し、且つサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子。
3. 配列番号：1 に記載の塩基配列を有する核酸又はその部分と、ストリンジェント条件下でハイブリダイズし、且つサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子。
4. 前記蛋白質が、ヒスチジンプロテインキナーゼである請求項1～3のいずれか1項記載の遺伝子。
5. 請求項1～4のいずれか1項に記載の遺伝子を含んでなるベクター。
6. 請求項5に記載のベクターにより形質転換された宿主。
7. 請求項1～4のいずれか1項に記載の遺伝子によってコードされる蛋白質。
8. 請求項6に記載の宿主を培養し、又は成育させ、そして該宿主からヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質を採取することを特徴とする該蛋白質の製造方法。
9. 請求項1～4のいずれか1項に記載の遺伝子が導入された植物又は植物細胞。
10. 請求項1～4のいずれか1項に記載の遺伝子を植物又は植物細胞に導入し、該遺伝子を発現せしめることによる植物又は植物細胞の成長を調節する方法。
11. 請求項1～4のいずれか1項に記載の遺伝子を植物又は植物

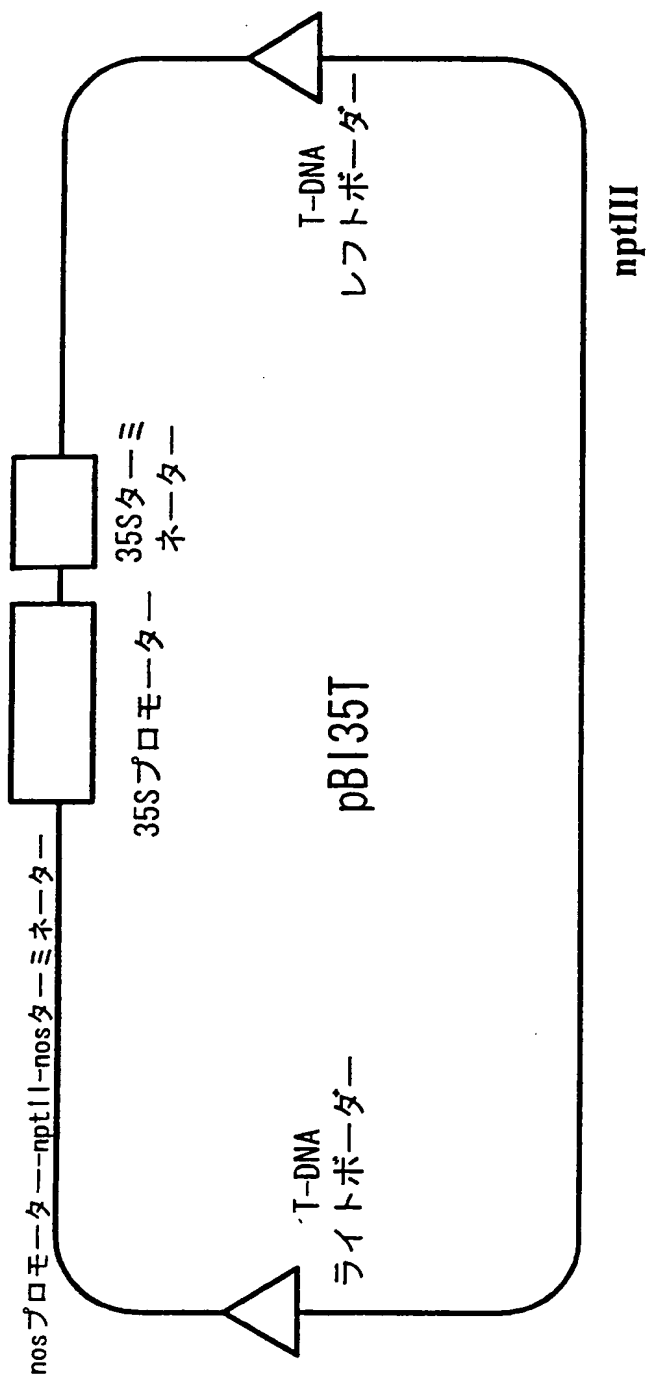


細胞に導入し、該遺伝子を発現せしめることによる植物又は植物細胞の不定芽形成を誘導する方法。

12. 請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の遺伝子を植物又は植物細胞に導入し、該遺伝子を発現せしめることによる植物の花成時期を調節する方法。

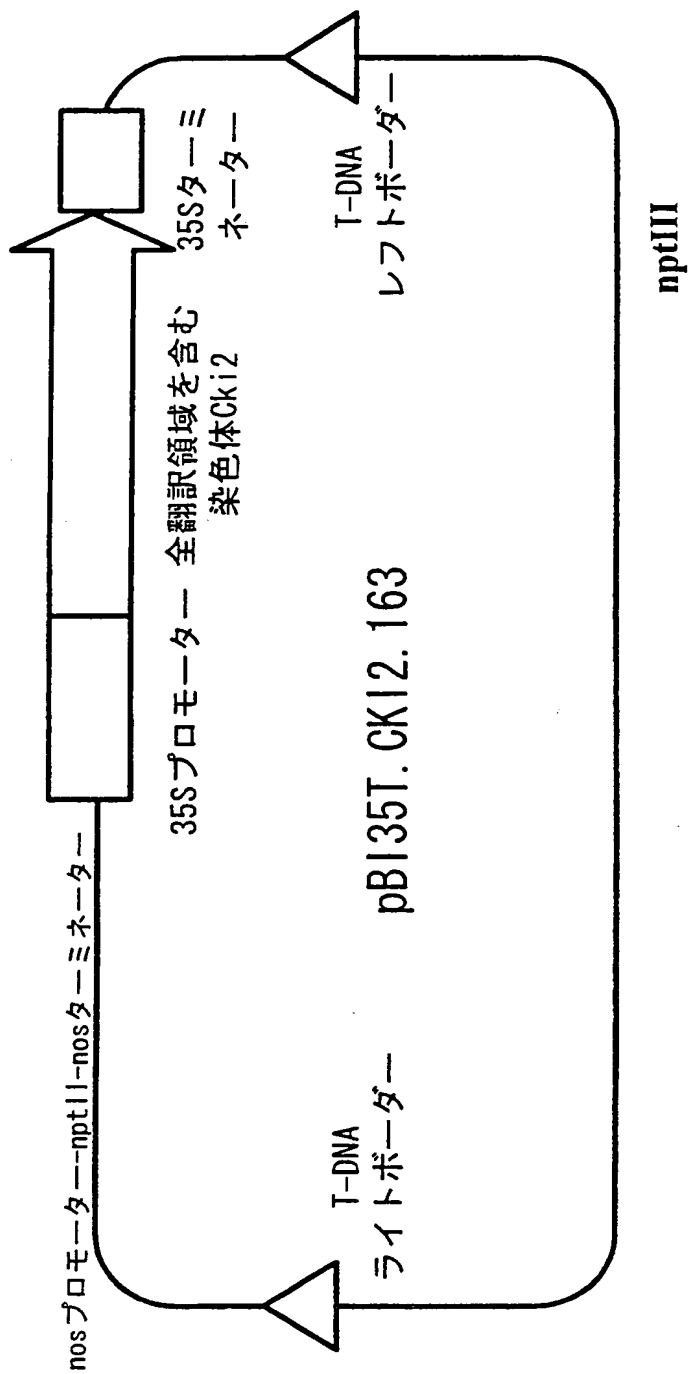
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Fig.1



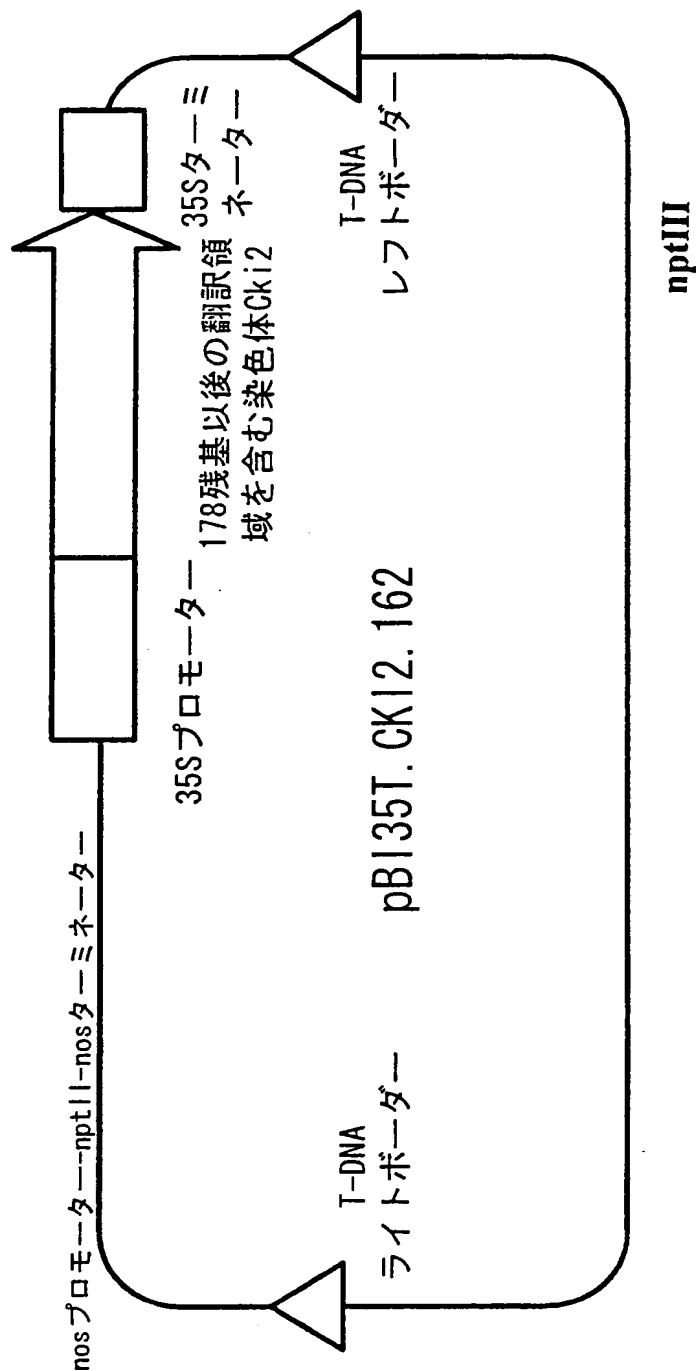
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Fig. 2



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

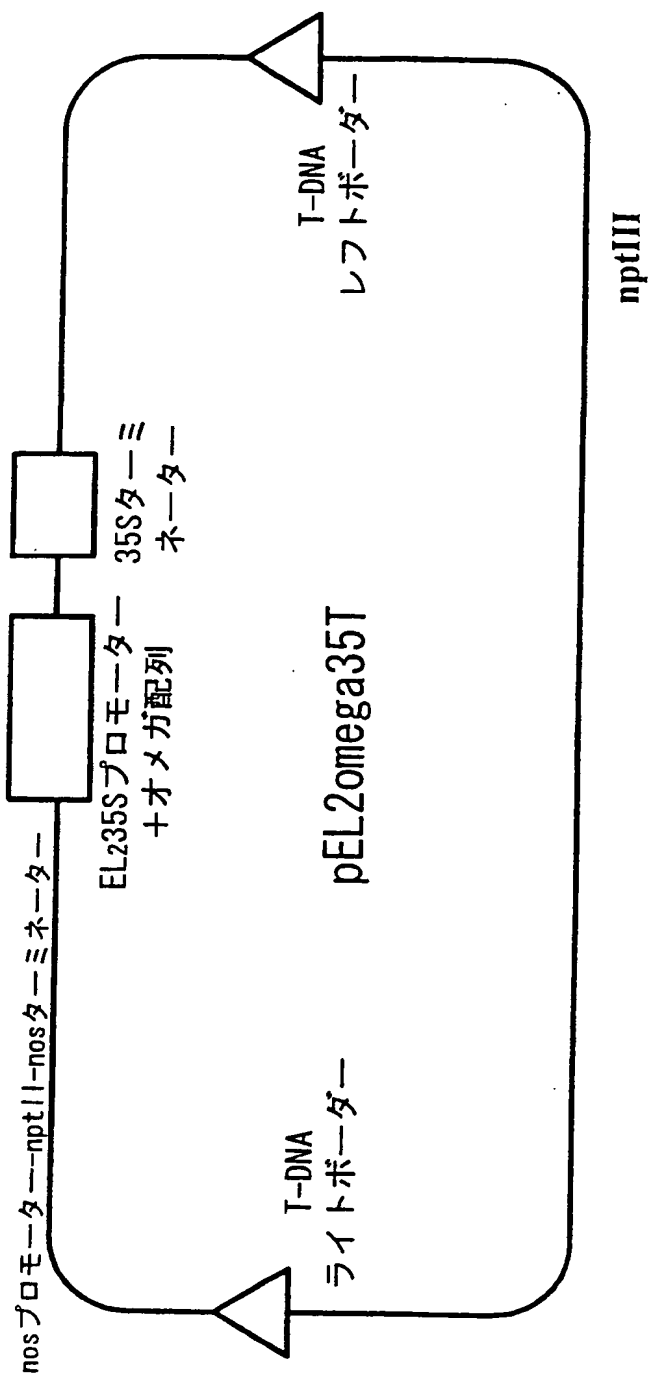
Fig. 3



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

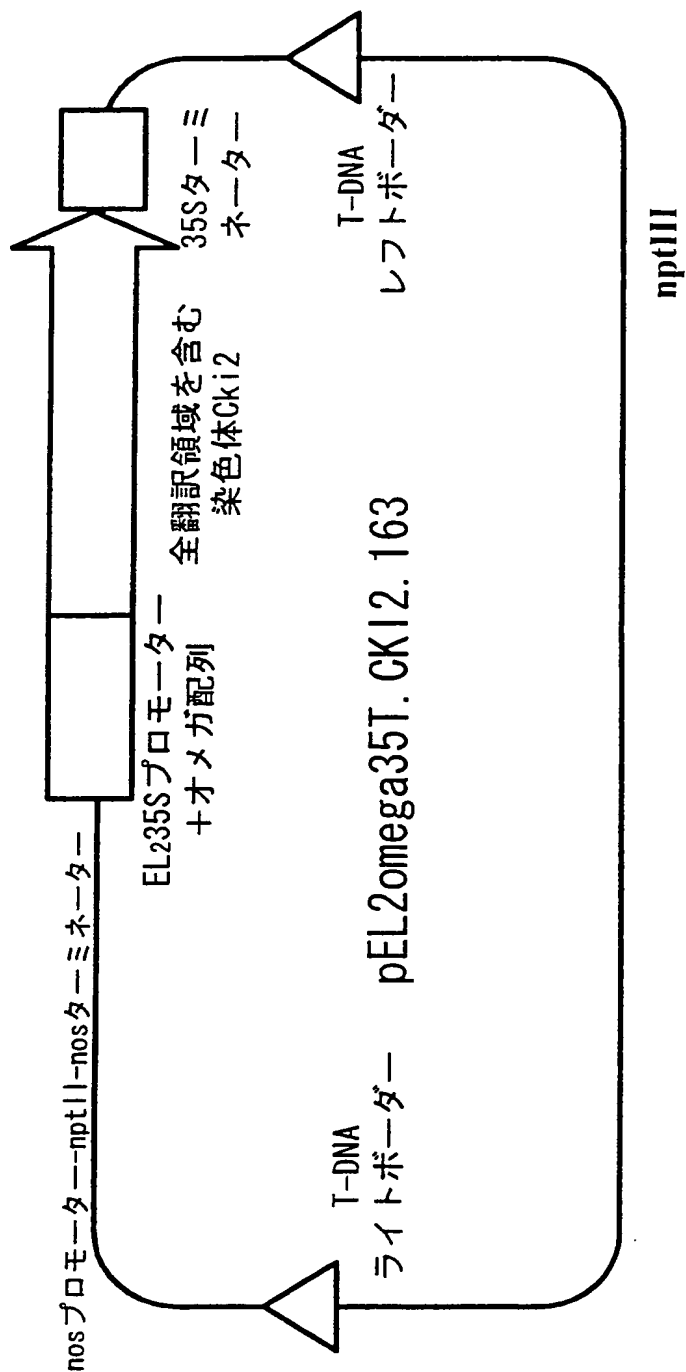


Fig. 4



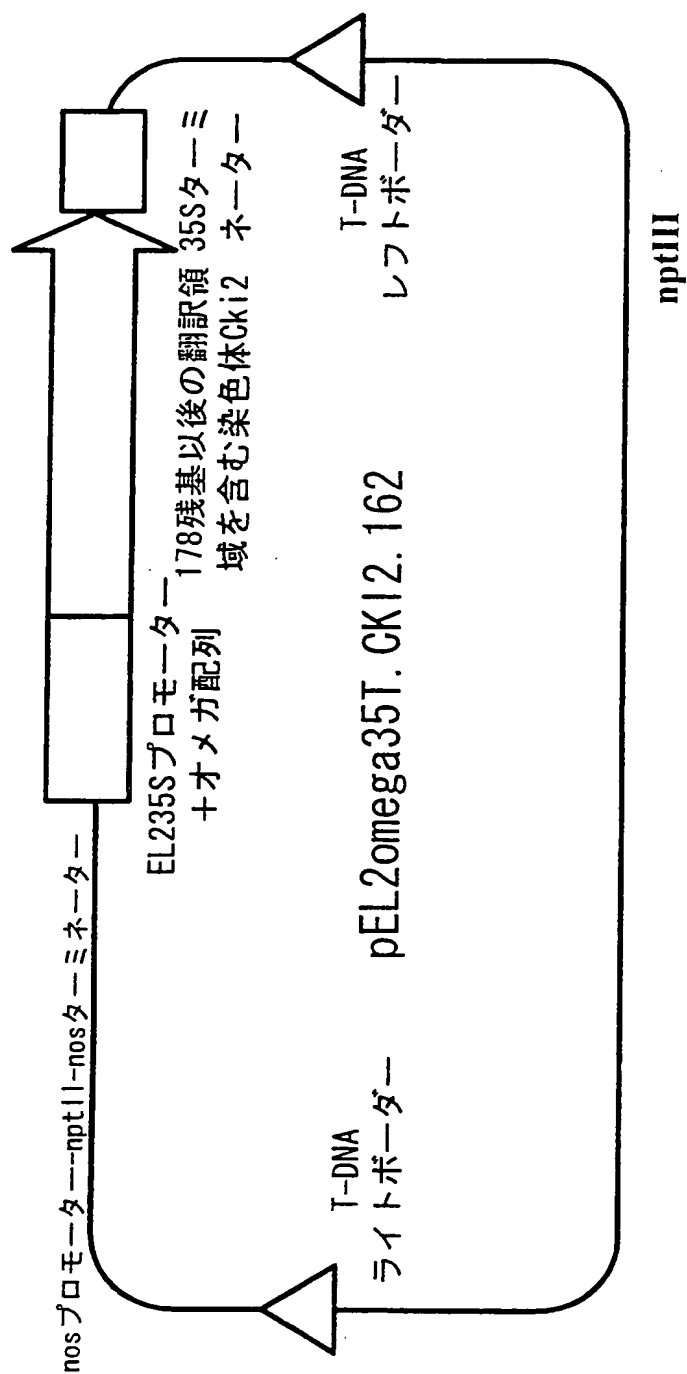
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Fig. 5



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Fig. 6



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

< 1 1 0 >   Suntory Limited  
 < 1 1 0 >   Nippon Paper Industries  
 < 1 2 0 >   Gene coding for protein participating in signal  
 transduction of cytokinin  
 < 1 3 0 >   9 9 3 7 7 6  
 < 1 6 0 >   2  
 < 2 1 0 >   1  
 < 2 1 1 >   3 0 9 6  
 < 2 1 2 >   DNA  
 < 2 1 3 >   Arabidopsis thaliana  
 < 2 2 1 >   CDS  
 < 2 2 2 >   ( 1 8 7 ) . . . ( 2 9 5 2 )  
 < 2 2 3 >   Nucleotide sequence coding for histidine protein  
 kinase

< 4 0 0 >   1  
 gactcttctt cagatctact cactccttct ttctctcctt cttcttcttc atttttccgg   60  
 tgaccggagt cggagaaggt tctttattca gatcaagggt ctggcttaaa gaaaaaagtt   120  
 gtttgaattt tgagatttgt ctgggtccatt gtgttgctgt tgttgtatga agagaaacct   180  
 tgatca atg gtc tgt gaa atg gag act gat cag att gag gaa atg gat   228

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp

1                      5                      10

gtc gaa gtt ttg tct tcg atg tgg ccc gaa gat gtt gga act gaa gct   276  
 Val Glu Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala

15                      20                      25                      30

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



gac aaa cag t ac gtc gag aaa cct gcc gga gat gac acg ttg 324  
 Asp Lys Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu  
 35 40 45  
 aaa gaa gtt act atc gag aca cgg acc att gcg gat atg aca cgg tta 372  
 Lys Glu Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu  
 50 55 60  
 cca aac cta ttg aat tcg act cat caa ggc tcc tct caa cta acc aac 420  
 Pro Asn Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn  
 65 70 75  
 ctt gtg aaa caa tgg gag tat atg caa gac aac gcg gtt cgg ctg tta 468  
 Leu Val Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu  
 80 85 90  
 aaa gaa gag cta aaa aat ctc gat aga cag aga gaa gaa gcc gag gct 516  
 Lys Glu Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala  
 95 100 105 110  
 aaa gag ttg aag atc att gag gag tat aag ttt gag agc aac gag cct 564  
 Lys Glu Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro  
 115 120 125  
 gag aat gtt ccg gtt ttg gat gag acg agt gat ttg ttc cgc agg ttt 612  
 Glu Asn Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe  
 130 135 140  
 agg cag aaa aaa cga gat gcc ttg gtc gat agc aag aag att gag atc 660  
 Arg Gln Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile  
 145 150 155  
 tat gag gag ttt gac act gtt gca tat tgg aaa cag aag gcg ttg agt 708  
 Tyr Glu Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser  
 160 165 170

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

ctt gag aaa a ctt gag gcg agt act gag aga gaa cga ttg atg 756  
 Leu Glu Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met  
 170 180 185 190  
 gag aag ctg agt gag agt ttg aaa act atg gag agt cag tca gca ccg 804  
 Glu Lys Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro  
 195 200 205  
 gtc caa gag ctt act cag aat ctt aag aga gct gaa ggt ttc ttg cat 852  
 Val Gln Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His  
 210 215 220  
 ttc ata ctt cag aat gca cct att gtt atg ggc cat cag gat aaa gat 900  
 Phe Ile Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp  
 225 230 235  
 tta cgc tac ttg ttc atc tac aac aag tat cct agt tta cgg gaa cag 948  
 Leu Arg Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln  
 240 245 250  
 gac att ttg gga aaa aca gac gtg gag ata ttc cat gga ggt gga gtt 996  
 Asp Ile Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val  
 255 260 265 270  
 aaa gaa tct gaa gat ttc aag aga gaa gtt ctt gag aaa gga aaa gct 1044  
 Lys Glu Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala  
 275 280 285  
 tca aag aga gag atc aca ttt act aca gat tta ttt gga tca aag acg 1092  
 Ser Lys Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr  
 290 295 300  
 ttt ttg ata tat gtt gag cct gtt tac aac aaa gct ggc gag aaa atc 1140  
 Phe Leu Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile  
 305 310 315

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

ggt ata aac tac atg gga atg gaa gta act gat cag gaa gtg aaa agg 1188  
 Gly Ile Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg  
 320 325 330  
 gag aaa atg gcg aaa ctt aga gaa gat aac gct gtg aga aag gcg atg 1236  
 Glu Lys Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met  
 335 340 345 350  
 gaa tca gaa ctg aac aag act att cac att aca gag gag aca atg aga 1284  
 Glu Ser Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg  
 355 360 365  
 gca aag cag atg cta gcg acg atg tct cat gag ata agg tca cca ttg 1332  
 Ala Lys Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu  
 370 375 380  
 tca gga gta gtg gga atg gct gag ata ctt tca act aca aaa ctg gat 1380  
 Ser Gly Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp  
 385 390 395  
 aaa gag caa aga cag ttg ttg aat gtc atg atc tct tct ggt gat ttg 1428  
 Lys Glu Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu  
 400 405 410  
 gtg ctt cag cta atc aac gac att ctt gat ctc tcc aag gtt gaa tca 1476  
 Val Leu Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser  
 415 420 425 430  
 ggt gtg atg aga tta gaa gct aca aag ttt cga cca aga gaa gta gtg 1524  
 Gly Val Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val  
 435 440 445  
 aag cat gtg cta cag aca gct gca gca tcg ctg aag aaa tct ttg aca 1572  
 Lys His Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr  
 450 455 460

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

tta gaa gga aac att gca gat gat gtt cct att gag gca gtt gga gat 1620  
 Leu Glu Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp  
 465 470 475  
 gtt cta agg att agg cag atc ctc acc aat ttg ata agc aat gct atc 1668  
 Val Leu Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile  
 480 485 490  
 aag ttt aca cat gaa gga aat gta gga atc aaa ctc caa gtg ata tca 1716  
 Lys Phe Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser  
 495 500 505 510  
 gaa cca tcc ttt gtg cgg gat aac gca ttg aac gca gac acc gag gaa 1764  
 Glu Pro Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu  
 515 520 525  
 cac gaa caa aac ggt ttg acc gag act tca gtt tgg att tgc tgt gac 1812  
 His Glu Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp  
 530 535 540  
 gta tgg gac act gga att gga atc cca gaa aac gct ctt cca tgt ttg 1860  
 Val Trp Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu  
 545 550 555  
 ttc aag aag tac atg caa gca agc gct gat cat gcc cgg aaa tac ggt 1908  
 Phe Lys Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly  
 560 565 570  
 ggg act ggt ctc gga ctt gct att tgt aaa cag ctg gtt gag tta atg 1956  
 Gly Thr Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met  
 575 580 585 590  
 gga ggc caa ctc act gtg aca agc cgg gtg agc gaa ggt tca acg ttc 2004  
 Gly Gly Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser Glu Gly Ser Thr Phe  
 595 600 605

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



aca ttt ata tta ccc tac aaa gtt gga aga tca gat gat tat tca gat 2052  
 Thr Phe Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp  
 610 615 620  
 gat caa gat gag ttc tct gat atg gcg gat caa caa tct gaa cca gac 2100  
 Asp Gln Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp  
 625 630 635  
 gat aca gct gaa gga tat ttc cag ttt aaa ccg ctc tta gga tcg ata 2148  
 Asp Thr Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile  
 640 645 650  
 tat tcg aat ggc gga ccg ggg atc agc aat gac ttc tta cct cat aaa 2196  
 Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys  
 655 660 665 670  
 gtc atg ctt act agt cct att aag ctc atc aat ggt ttt gtc gct gat 2244  
 Val Met Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp  
 675 680 685  
 ccc tct aat aac act gga cag agc gag atg cta cag ctt gaa aac ggt 2292  
 Pro Ser Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly  
 690 695 700  
 ggt tac atg gat gaa tct aaa ctc gaa acc agt tct ggt cat tgc cct 2340  
 Gly Tyr Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro  
 705 710 715  
 gaa tca gct cac caa tat gag aat gga aat ggt cga tgt ttc tct aag 2388  
 Glu Ser Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys  
 720 725 730  
 gaa tct gaa tct tgt agc agt tca caa gct agc tca gaa ggt gga acc 2436  
 Glu Ser Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr  
 735 740 745 750

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

tta gaa atg gag tca gag ctc aca gtt tca tct cat agg gaa gag gaa	2484
Leu Glu Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu	
755 760 765	
aaa gcc gag aca gaa gta aaa gaa aca tca aag cca aag att ttg ctt	2532
Lys Ala Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Lys Ile Leu Leu	
770 775 780	
gtg gaa gat aat aag atc aac atc atg gtt gca aag tcg atg atg aag	2580
Val Glu Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys	
785 790 795	
cag tta ggc cat acc atg gat att gct aat aat gga gtt gaa gcc ata	2628
Gln Leu Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile	
800 805 810	
acc gcg att aat agc tct agc tac gat ctg gta ctc atg gat gtg tgc	2676
Thr Ala Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys	
815 820 825 830	
atg ccg gtg ctc gat ggt tta aaa gct aca aga ctg atc cgt tcg tat	2724
Met Pro Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr	
835 840 845	
gaa gaa act ggg aac tgg aat gct gca ata gaa gcc gga gta gat ata	2772
Glu Glu Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile	
850 855 860	
tcg aca tcg gag aat gaa caa gtt tgt atg cgt ccc aca aac cgg ctg	2820
Ser Thr Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu	
865 870 875	
cct ata atc gcg atg acg gca aat act tta gca gag agt tca gaa gaa	2868
Pro Ile Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu	
880 885 890	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

tgt tat gca aat agt atg gac tcg ttt att tcg aaa cgt gta acg ttg 2916

Cys Tyr Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu

895 900 905 910

caa aaa ctg aga gag tgt ttg caa cag tat ttg cac tgagatttca 2962

Gln Lys Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His

915

920

gatttttgtg tttttagat taagaaatgg ttgtgttgta tataaattgt gtaggaaaaa 3022

agttttggag agctactaag tagcttctc ttttagaga tgtatagttc aataaaaaaa 3082

aaaaaaaaaa aaaa 3096

< 2 1 0 > 2

< 2 1 1 > 9 2 2

< 2 1 2 > PRT

< 2 1 3 > Arabidopsis thaliana

< 2 2 3 > Amino acid sequence of histidine protein kinase

< 4 0 0 > 2

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu

1

5

10

15

Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys

20

25

30

Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu

35

40

45

Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn

50

55

60

Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val

65

70

75

80

Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu

85

90

95

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu  
100 105 110

Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn  
115 120 125

Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln  
130 135 140

Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu  
145 150 155 160

Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu  
165 170 175

Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys  
180 185 190

Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln  
195 200 205

Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile  
210 215 220

Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp Leu Arg  
225 230 235 240

Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln Asp Ile  
245 250 255

Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys Glu  
260 265 270

Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser Lys  
275 280 285

Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe Leu  
290 295 300

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly Ile  
305 310 315 320  
Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg Glu Lys  
325 330 335  
Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met Glu Ser  
340 345 350  
Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys  
355 360 365  
Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly  
370 375 380  
Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu  
385 390 395 400  
Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu  
405 410 415  
Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser Gly Val  
420 425 430  
Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His  
435 440 445  
Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu  
450 455 460  
Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp Val Leu  
465 470 475 480  
Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile Lys Phe  
485 490 495  
Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro  
500 505 510

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu His Glu  
515 520 525

Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp  
530 535 540

Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys  
545 550 555 560

Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr  
565 570 575

Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met Gly Gly  
580 585 590

Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe  
595 600 605

Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln  
610 615 620

Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr  
625 630 635 640

Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser  
645 650 655

Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met  
660 665 670

Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser  
675 680 685

Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr  
690 695 700

Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser  
705 710 715 720

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser  
725 730 735  
Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu  
740 745 750  
Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala  
755 760 765  
Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Lys Ile Leu Leu Val Glu  
770 775 780  
Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu  
785 790 795 800  
Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala  
805 810 815  
Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys Met Pro  
820 825 830  
Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu  
835 840 845  
Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr  
850 855 860  
Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile  
865 870 875 880  
Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr  
885 890 895  
Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys  
900 905 910  
Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His  
915 920

&lt; 2 1 0 &gt; 3

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

< 2 1 1 > 4 6 7 9  
< 2 1 2 > DNA  
< 2 1 3 > Arabidopsis thaliana  
< 2 2 0 >  
< 2 2 1 > exon 1  
< 2 2 2 > ( 2 3 0 ) ... ( 3 0 7 )  
< 2 2 1 > exon 2  
< 2 2 2 > ( 8 6 5 ) ... ( 1 6 7 7 )  
< 2 2 1 > exon 3  
< 2 2 2 > ( 1 7 5 5 ) ... ( 1 8 1 1 )  
< 2 2 1 > exon 4  
< 2 2 2 > ( 1 9 0 4 ) ... ( 2 1 3 1 )  
< 2 2 1 > exon 5  
< 2 2 2 > ( 2 2 1 4 ) ... ( 2 3 0 7 )  
< 2 2 1 > exon 6  
< 2 2 2 > ( 2 3 8 9 ) ... ( 2 5 9 5 )  
< 2 2 1 > exon 7  
< 2 2 2 > ( 2 6 9 7 ) ... ( 2 8 2 7 )  
< 2 2 1 > exon 8  
< 2 2 2 > ( 2 9 0 5 ) ... ( 2 9 5 4 )  
< 2 2 1 > exon 9  
< 2 2 2 > ( 3 0 2 8 ) ... ( 3 2 0 9 )  
< 2 2 1 > exon 10  
< 2 2 2 > ( 3 3 0 6 ) ... ( 3 4 0 9 )  
< 2 2 1 > exon 11  
< 2 2 2 > ( 3 4 9 2 ) ... ( 4 2 1 4 )  
< 2 2 1 > exon 12

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



< 2 2 2 > ( 4 3 0 3 ) ... ( 4 4 6 7 )

< 2 2 1 > exon 13

< 2 2 2 > ( 4 5 5 7 ) ... ( 4 6 7 9 )

< 2 2 3 > Nucleotide sequence of genomic DNA coding for histidine protein kinase

< 4 0 0 > 3

```

gagaaagaga gagaagagaa gagaagagaa gagatgaata taatatacat tgacctctct 60
gtctcatgag caagcacatg tcctctctct ctctctctct ctttctcttc tccgtaaaaa 120
aaattaccaa tctttcacia ttcatcaca tgctcctctc tctttcttca ttggctattc 180
tcttccaat gtcatttga agtttattta ctctactccc gacgaccacg actcttcttc 240
agatctactc actccttctt tctctccttc ttcttcttca tttttccggt gaccggagtc 300
ggagaaggta aagcttctga tcccttccc tttctccgg catactcgtt cctctgcttt 360
gtctttcgtt ttttcatth ctttctgtt cagcctttg catctcgaga cttcatgatt 420
acaatttctt tatgtttctc aatgcaagat tttcgtttat aatatatgat cactgatgtc 480
aagaataaat caccaaagat ttttttctt ccatatattt tttccgatca tcgctcaaaa 540
aaaagtttca tcgtttaaat ttattttcag attttatcgt ttattggatga attttatgat 600
cctagttagat aattcaatct gaaaaaagaa actgatacag ttttcttttt gaagctctgc 660
aaatttctga tttttaagct cgaatcatat aatttgaagt ttcccgttaa tgttcaatca 720
gaattgggcc acacacttag ttgttggtga cccttgcaa aattctatth tagttcatta 780
ttttcacat ttacagatc aagattctct gatggagatg gttgtcctg actctaacct 840
ctgtgtttga aaatatctat acaggttctt tattcagatc aaggttctgg cttaaagaaa 900
aaagttgttt gaattttgag atttgtctgg tccatttgtt tgctgttggt gtatgaagag 960
aaaccttgat ca 972
atg gtc tgt gaa atg gag act gat cag att gag gaa atg gat gtc gaa 1020
Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu

```

1

5

10

15

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

gtt ttg tct tcg atg tgg ccc gaa gat gtt gga act gaa gct gac aaa 1068  
 Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys  
 20 25 30  
 cag ttc aac gtc gag aaa cct gcc gga gat tta gac acg ttg aaa gaa 1116  
 Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu  
 35 40 45  
 gtt act atc gag aca cgg acc att gcg gat atg aca cgg tta cca aac 1164  
 Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn  
 50 55 60  
 cta ttg aat tcg act cat caa ggc tcc tct caa cta acc aac ctt gtg 1212  
 Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val  
 65 70 75 80  
 aaa caa tgg gag tat atg caa gac aac gcg gtt cgg ctg tta aaa gaa 1260  
 Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu  
 85 90 95  
 gag cta aaa aat ctc gat aga cag aga gaa gaa gcc gag gct aaa gag 1308  
 Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu  
 100 105 110  
 ttg aag atc att gag gag tat aag ttt gag agc aac gag cct gag aat 1356  
 Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn  
 115 120 125  
 gtt ccg gtt ttg gat gag acg agt gat ttg ttc cgc agg ttt agg cag 1404  
 Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln  
 130 135 140  
 aaa aaa cga gat gcc ttg gtc gat agc aag aag att gag atc tat gag 1452  
 Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu  
 145 150 155 160

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

gag ttt gac act gtt gca tat tgg aaa cag aag gcg ttg agt ctt gag 1500  
 Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu  
 165 170 175  
 aaa atg ctt gag gcg agt act gag aga gaa agg cga ttg atg gag aag 1548  
 Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys  
 180 185 190  
 ctg agt gag agt ttg aaa act atg gag agt cag tca gca ccg gtc caa 1596  
 Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln  
 195 200 205  
 gag ctt act cag aat ctt aag aga gct gaa ggt ttc ttg cat ttc ata 1644  
 Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile  
 210 215 220  
 ctt cag aat gca cct att gtt atg ggc cat cag gtaaagtaaa aggtgattct 1697  
 Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln  
 225 230 235  
 tgatcttggtt ttgatctttt tcgacttttc tgattctttg ttacttatga gtttcag 1754  
 gat aaa gat tta cgc tac ttg ttc atc tac aac aag tat cct agt tta 1802  
 Asp Lys Asp Leu Arg Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu  
 240 245 250  
 cgg gaa cag gttagaagaa aactttttct tctgttggat ttattgaatc 1851  
 Arg Glu Gln  
 attctctgag gaaatgtgtt taaatcaaaa tctgtttctt actatatttc ag gac 1906  
 Asp  
 255  
 att ttg gga aaa aca gac gtg gag ata ttc cat gga ggt gga gtt aaa 1954  
 Ile Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys  
 260 265 270

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

gaa tct gaa gat ttc aag aga gaa gtt ctt gag aaa gga aaa gct tca 2002  
 Glu Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser  
 275 280 285  
 aag aga gag atc aca ttt act aca gat tta ttt gga tca aag acg ttt 2050  
 Lys Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe  
 290 295 300  
 ttg ata tat gtt gag cct gtt tac aac aaa gct ggc gag aaa atc ggt 2098  
 Leu Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly  
 305 310 315  
 ata aac tac atg gga atg gaa gta act gat cag gttagttagc taaagatttt 2151  
 Ile Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln  
 320 325 330  
 tgaactattc tataatctat gttctcattt tcacatcttc actggatctt cctgtgttac 2211  
 ag gta gtg aaa agg gag aaa atg gcg aaa ctt aga gaa gat aac gct 2258  
 Val Val Lys Arg Glu Lys Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala  
 335 340 345  
 gtg aga aag gcg atg gaa tca gaa ctg aac aag act att cac att aca 2306  
 Val Arg Lys Ala Met Glu Ser Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr  
 350 355 360  
 g gtttgttcaa gttaagcagt gaaagtttta gaaagattaa tgagaaaact 2357  
 agacttaggt gttgtgtttt ttcttttgca g ag gag aca atg aga gca aag cag 2411  
 Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys Gln  
 365  
 atg cta gcg acg atg tct cat gag ata agg tca cca ttg tca gga gta 2459  
 Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly Val  
 370 375 380 385

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



gtg gga atg gct gag ata ctt tca act aca aaa ctg gat aaa gag caa 2507  
 Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu Gln  
 390 395 400  
 aga cag ttg ttg aat gtc atg atc tct tct ggt gat ttg gtg ctt cag 2555  
 Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu Gln  
 405 410 415  
 cta atc aac gac att ctt gat ctc tcc aag gtt gaa tca g gtacaatata 2605  
 Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser  
 420 425 430  
 ctgttttcaa agtttttgat cttgtggtgt ggtcattgtt caaatcctcg attacatatg 2665  
 ttattttttg gtatttgtgt gttcttttta g gt gtg atg aga tta gaa gct aca 2719  
 Gly Val Met Arg Leu Glu Ala Thr  
 435  
 aag ttt cga cca aga gaa gta gtg aag cat gtg cta cag aca gct gca 2767  
 Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His Val Leu Gln Thr Ala Ala  
 440 445 450  
 gca tcg ctg aag aaa tct ttg aca tta gaa gga aac att gca gat gat 2815  
 Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu Gly Asn Ile Ala Asp Asp  
 455 460 465 470  
 gtt cct att gag gttactacac atttcagaaa gagttaaatg tggcaaaagt 2867  
 Val Pro Ile Glu  
 ctttgtgatc ttaacttttt ttcctttaaa tgttttag gta gtt gga gat gtt cta 2922  
 Val Val Gly Asp Val Leu  
 475 480  
 agg att agg cag atc ctc acc aat ttg ata ag gttctttacc tgattcctgt 2974  
 Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser  
 485 490

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

attatttgca taatgacaag tttcggttcc tgatttgttc aaacgttttg cag c aat 3031

Asn

gct atc aag ttt aca cat gaa gga aat gta gga atc aaa ctc caa gtg 3079

Ala Ile Lys Phe Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val

495

500

505

ata tca gaa cca tcc ttt gtg cgg gat aac gca ttg aac gca gac acc 3127

Ile Ser Glu Pro Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr

510

515

520

gag gaa cac gaa caa aac ggt ttg acc gag act tca gtt tgg att tgc 3175

Glu Glu His Glu Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys

525

530

535

540

tgt gac gta tgg gac act gga att gga atc cca g gcaagcaagc 3219

Cys Asp Val Trp Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro

545

550

aattctgaca aatgaacatg aaaagactaa aaaactccaa ctaacctata tattaacctg 3279

gttcatgttt tgggtgttctt gtgcag aa aac gct ctt cca tgt ttg ttc aag 3331

Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys

555

560

aag tac atg caa gca agc gct gat cat gcc cgg aaa tac ggt ggg act 3379

Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr

565

570

575

ggt ctc gga ctt gct att tgt aaa cag ctg gtaagctatt attaggattt ta 3431

Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu

580

585

caacacta cagaagaaac taatgaagct cgttatccta atctttcttt gtttgtttac 3489

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

ag gtt gag tta atg gga ggc caa ctc act gtg aca agc cgg gtg agc 3536  
 Val Glu Leu Met Gly Gly Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser  
 590 595 600  
 gaa ggt tca acg ttc aca ttt ata tta ccc tac aaa gtt gga aga tca 3586  
 Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser  
 605 610 615  
 gat gat tat tca gat gat caa gat gag ttc tct gat atg gcg gat caa 3632  
 Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln  
 620 625 630  
 caa tct gaa cca gac gat aca gct gaa gga tat ttc cag ttt aaa ccg 3680  
 Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro  
 635 640 645  
 ctc tta gga tcg ata tat tcg aat ggc gga ccg ggg atc agc aat gac 3728  
 Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp  
 650 655 660 665  
 ttc tta cct cat aaa gtc atg ctt act agt cct att aag ctc atc aat 3776  
 Phe Leu Pro His Lys Val Met Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn  
 670 675 680  
 ggt ttt gtc gct gat ccc tct aat aac act gga cag agc gag atg cta 3824  
 Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu  
 685 690 695  
 cag ctt gaa aac ggt ggt tac atg gat gaa tct aaa ctc gaa acc agt 3872  
 Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser  
 700 705 710  
 tct ggt cat tgc cct gaa tca gct cac caa tat gag aat gga aat ggt 3920  
 Ser Gly His Cys Pro Glu Ser Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly  
 715 720 725

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

cga tgt ttc tct aag gaa tct gaa tct tgt agc agt tca caa gct agc 3968  
 Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser  
 730 735 740 745  
 tca gaa ggt gga acc tta gaa atg gag tca gag ctc aca gtt tca tct 4016  
 Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser  
 750 755 760  
 cat agg gaa gag gaa aaa gcc gag aca gaa gta aaa gaa aca tca aag 4064  
 His Arg Glu Glu Glu Lys Ala Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys  
 765 770 775  
 cca aag att ttg ctt gtg gaa gat aat aag atc aac atc atg gtt gca 4112  
 Pro Lys Ile Leu Leu Val Glu Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala  
 780 785 790  
 aag tcg atg atg aag cag tta ggc cat acc atg gat att gct aat aat 4160  
 Lys Ser Met Met Lys Gln Leu Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn  
 795 800 805  
 gga gtt gaa gcc ata acc gcg att aat agc tct agc tac gat ctg gta 4208  
 Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val  
 810 815 820 825  
 ctc atg gtatgtaaattttcttagctctaaggacttgtccttttcaattcactta 4264  
 Leu Met  
 tatttgaaaaaggcttataattcatattgggttcacag gat gtg tgc atg ccg gtg 4320  
 Asp Val Cys Met Pro Val  
 830  
 ctc gat ggt tta aaa gct aca aga ctg atc cgt tcg tat gaa gaa act 4368  
 Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu Thr  
 835 840 845

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



ggg aac tgg aat gct gca ata gaa gcc gga gta gat ata tcg aca tcg 4416  
 Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr Ser  
 850 855 860 865  
 gag aat gaa caa gtt tgt atg cgt ccc aca aac cgg ctg cct ata atc 4464  
 Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile Ile  
 870 875 880  
 gcg gtcagtactt cttttttgaa tactaaacac agagatctaa tgcataactt 4517  
 Ala  
 gagaaaactg atagtcagaa tgcgttgtgg aatgtgcag atg acg gca aat act 4571  
 Met Thr Ala Asn Thr  
 885  
 tta gca gag agt tca gaa gaa tgt tat gca aat ggt atg gac tcg ttt 4619  
 Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe  
 890 895 900  
 att tcg aaa cct gta acg ttg caa aaa ctg aga gag tgt ttg caa cag 4667  
 Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln  
 905 910 915  
 tat ttg cac tga 4679  
 Tyr Leu His  
 920  
 < 2 1 0 > 4  
 < 2 1 1 > 9 2 2  
 < 2 1 2 > PRT  
 < 2 1 3 > Arabidopsis thariana  
 < 2 2 3 > Amino acid sequence of histidine protein kinase  
 < 4 0 0 > 4

**THIS PAGE BLANK (USE)**

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu  
1 5 10 15  
Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys  
20 25 30  
Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu  
35 40 45  
Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn  
50 55 60  
Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val  
65 70 75 80  
Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu  
85 90 95  
Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu  
100 105 110  
Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn  
115 120 125  
Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln  
130 135 140  
Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu  
145 150 155 160  
Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu  
165 170 175  
Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys  
180 185 190  
Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln  
195 200 205

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile  
210 215 220  
Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp Leu Arg  
225 230 235 240  
Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln Asp Ile  
245 250 255  
Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys Glu  
260 265 270  
Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser Lys  
275 280 285  
Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe Leu  
290 295 300  
Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly Ile  
305 310 315 320  
Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg Glu Lys  
325 330 335  
Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met Glu Ser  
340 345 350  
Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys  
355 360 365  
Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly  
370 375 380  
Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu  
385 390 395 400  
Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu  
405 410 415

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser Gly Val  
420 425 430

Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His  
435 440 445

Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu  
450 455 460

Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp Val Leu  
465 470 475 480

Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile Lys Phe  
485 490 495

Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro  
500 505 510

Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu His Glu  
515 520 525

Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp  
530 535 540

Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys  
545 550 555 560

Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr  
565 570 575

Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met Gly Gly  
580 585 590

Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe  
595 600 605

Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln  
610 615 620

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr  
625 630 635 640  
Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser  
645 650 655  
Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met  
660 665 670  
Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser  
675 680 685  
Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr  
690 695 700  
Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser  
705 710 715 720  
Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser  
725 730 735  
Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu  
740 745 750  
Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala  
755 760 765  
Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Lys Ile Leu Leu Val Glu  
770 775 780  
Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu  
785 790 795 800  
Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala  
805 810 815  
Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys Met Pro  
820 825 830

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu

835

840

845

Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr

850

855

860

Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile

865

870

875

880

Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr

885

890

895

Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys

900

905

910

Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His

915

920

< 2 1 0 > 5

< 2 1 1 > 3 7 0 8

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Arabidopsis thaliana

< 2 2 0 >

< 2 2 1 > exon 1

< 2 2 2 > ( 1 ) ... ( 7 0 5 )

< 2 2 1 > exon 2

< 2 2 2 > ( 7 8 3 ) ... ( 8 3 9 )

< 2 2 1 > exon 3

< 2 2 2 > ( 9 3 3 ) ... ( 1 1 6 0 )

< 2 2 1 > exon 4

< 2 2 2 > ( 1 2 4 3 ) ... ( 1 3 3 6 )

< 2 2 1 > exon 5

< 2 2 2 > ( 1 4 1 8 ) ... ( 1 6 2 4 )

2 7 / 4 3

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

< 2 2 1 > exon 6

< 2 2 2 > ( 1 7 2 6 ) ... ( 1 8 5 6 )

< 2 2 1 > exon 7

< 2 2 2 > ( 1 9 3 4 ) ... ( 1 9 8 3 )

< 2 2 1 > exon 8

< 2 2 2 > ( 2 0 5 7 ) ... ( 2 2 3 8 )

< 2 2 1 > exon 9

< 2 2 2 > ( 2 3 3 5 ) ... ( 2 4 3 8 )

< 2 2 1 > exon 10

< 2 2 2 > ( 2 5 2 1 ) ... ( 3 2 4 3 )

< 2 2 1 > exon 11

< 2 2 2 > ( 3 3 3 2 ) ... ( 3 4 9 6 )

< 2 2 1 > exon 12

< 2 2 2 > ( 3 5 8 6 ) ... ( 3 7 0 8 )

< 2 2 3 > Nucleotide sequence of genomic DNA coding for histidine protein kinase

< 4 0 0 > 5

atg gtc tgt gaa atg gag act gat cag att gag gaa atg gat gtc gaa 48

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu

1

5

10

15

gtt ttg tct tcg atg tgg ccc gaa gat gtt gga act gaa gct gac aaa 96

Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys

20

25

30

cag ttc aac gtc gag aaa cct gcc gga gat tta gac acg ttg aaa gaa 144

Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu

35

40

45

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

gtt act atc gag aca cgg acc att gcg gat atg aca cgg tta cca aac 192  
 Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn  
 50 55 60  
 cta ttg aat tcg act cat caa ggc tcc tct caa cta acc aac ctt gtg 240  
 Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val  
 65 70 75 80  
 aaa caa tgg gag tat atg caa gac aac gcg gtt cgg ctg tta aaa gaa 288  
 Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu  
 85 90 95  
 gag cta aag aat ctc gat aga cag aga gaa gaa gct gag gct aaa gag 336  
 Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu  
 100 105 110  
 ttg aag atc att gag gag tat aag ttt gag agc aac gag cct gag aat 384  
 Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn  
 115 120 125  
 gtt ccg gtt ttg gat gag acg agt gat ttg ttc cgc agg ttt agg cag 432  
 Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln  
 130 135 140  
 aaa aaa cga gat gcc ttg gtc gat agc aag aag att gag atc tat gag 480  
 Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu  
 145 150 155 160  
 gag ttt gac act gtt gca tat tgg aaa cag aag gcg ttg agt ctt gag 528  
 Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu  
 165 170 175  
 aaa atg ctt gag gcg agt act gag aga gaa agg cga ttg atg gag aag 576  
 Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys  
 180 185 190

**THIS PAGE BLANK (L)**



ctg agt gag agt ttg aaa act atg gag agt cag tca gca ccg gtc caa 624  
 Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln  
 195 200 205  
 gag ctt act cag aat ctt aag aga gct gaa ggt ttc ttg cat ttc ata 672  
 Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile  
 210 215 220  
 ctt cag aat gca cct att gtt atg ggc cat cag gtaaagtaaa aggtgattct 725  
 Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln  
 225 230 235  
 tgatcttggtt ttgatcttt tcgacttttc tgattctttg ttacttatga gtttcag 782  
 gat aaa gat tta cgc tac ttg ttc atc tac aac aag tat cct agt tta 830  
 Asp Lys Asp Leu Arg Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu  
 240 245 250  
 cgg gaa cag gttagaagaa aactttttct tctgttggat ttattgaatc 879  
 Arg Glu Gln  
 attctcttga ggaaatgtgt ttaaatacaaa atctgtttct tactatatit cag gac 935  
 Asp  
 255  
 att ttg gga aaa aca gac gtg gag ata ttc cat gga ggt gga gtt aaa 983  
 Ile Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys  
 260 265 270  
 gaa tct gaa gat ttc aag aga gaa gtt ctt gag aaa gga aaa gct tca 1031  
 Glu Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser  
 275 280 285  
 aag aga gaa atc aca ttt act aca gat tta ttt gga tca aag acg ttt 1079  
 Lys Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe  
 290 295 300

**THIS PAGE BLANK (USP)**

ttg ata tat gtt gag cct gtt tac aac aaa gct ggc gag aaa atc ggt 1127  
Leu Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly  
305 310 315  
ata aac tac atg gga atg gaa gta act gat cag gttagtttagc taaagatttt 1180  
Ile Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln  
320 325 330  
tgaactattc tataatctat gttctcatTT tcacatcttc actggatctt cctgtgttac 1240  
ag gta gtg aaa agg gag aaa atg gcg aaa ctt aga gaa gat aac gct 1287  
Val Val Lys Arg Glu Lys Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala  
335 340 345  
gtg aga aag gcg atg gaa tca gaa ctg aac aag act att cac att aca 1335  
Val Arg Lys Ala Met Glu Ser Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr  
350 355 360  
g gtttgttcaa gttaagcact gaaagtttta gaaagattaa tgagaaaact 1386  
agacttaggt gttgtgtttt ttcttttgca g ag gag aca atg aga gca aag cag 1440  
Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys Gln  
365  
atg cta gcg acg atg tct cat gag ata agg tca cca ttg tca gga gta 1488  
Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly Val  
370 375 380 385  
gtg gga atg gct gag ata ctt tca act aca aaa ctg gat aaa gag caa 1536  
Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu Gln  
390 395 400  
aga cag ttg ttg aat gtc atg atc tct tct ggt gat ttg gtg ctt cag 1584  
Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu Gln  
405 410 415

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

cta atc aac gac att ctt gat ctc tcc aag gtt gaa tca g gtacaatata 1634

Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser

420

425

430

ctgttttcaa agtttttgat cttgtggtgt ggtcattgtt caaatcctcg attacatatg 1694

ttatTTTTtg gtatttTgtgt gttcttttta g gt gtg atg aga tta gaa gct aca 1748

Gly Val Met Arg Leu Glu Ala Thr

435

aag ttt cga cca aga gaa gta gtg aag cat gtg cta cag aca gct gca 1796

Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His Val Leu Gln Thr Ala Ala

440

445

450

gca tcg ctg aag aaa tct ttg aca tta gaa gga aac att gca gat gat 1844

Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu Gly Asn Ile Ala Asp Asp

455

460

465

470

gtt cct att gag gttactacac atttcagaaa gagttaaatg tggcaaaagt 1896

Val Pro Ile Glu

ctttgtgac ttaacttttt ttccttttaa tgttttag gta gtt gga gat gtt 1948

Val Val Gly Asp Val

475

cta agg att agg cag atc ctc acc aat ttg ata ag gttctttacc 1993

Leu Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser

480

485

490

tgattcctgt attatttgca taatgacaag ttttggttcc tgatttggtc aaacgttttg 2053

cag c aat gct atc aag ttt aca cat gaa gga aat gta gga atc aaa 2099

Asn Ala Ile Lys Phe Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys

495

500

505

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

ctc caa gtg ata tca gaa cca tcc ttt gtg cgg gat aac gca ttg aac 2147  
Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn  
510 515 520  
gca gac acc gag gaa cac gaa caa aac ggt ttg acc gag act tca gtt 2195  
Ala Asp Thr Glu Glu His Glu Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val  
525 530 535  
tgg att tgc tgt gac gta tgg gac act gga att gga atc cca 2237  
Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro  
540 545 550  
g gcaagcaagc aattctgaca aatgaacatg aaaagactaa aaaactccaa 2288  
ctaacctata tattaacctg gticcatgttt tgggtgttctt gtgcag aa aac 2339  
Glu Asn  
gct ctt cca tgt ttg ttc aag aag tac atg caa gca agc gct gat cat 2387  
Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His  
555 560 565  
gcc cga aaa tac ggt ggg act ggt ctc gga ctt gct att tgt aaa cag 2435  
Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln  
570 575 580 585  
ctg gtaagctatt attaggattt tacaacacta cagaagaaac taatgaagct 2488  
Leu  
cgttatccta atctttctct gtttgtttac ag gtt gag tta atg gga ggc caa 2541  
Val Glu Leu Met Gly Gly Gln  
590  
ctc act gtg aca agc cgg gtg aac gaa ggt tca acg ttc aca ttt ata 2589  
Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Asn Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe Ile  
595 600 605

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



tta ccc tac aaa gtt gga aga tca gat gat tat tca gat gat caa gat	2637
Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln Asp	
610                                  615                                  620                                  625	
gag ttc tct gat atg gcg gat caa caa tct gaa cca gac gat aca gct	2685
Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr Ala	
630                                  635                                  640	
gaa gga tat ttc cag ttt aaa ccg ctc tta gga tcg ata tat tcg aat	2733
Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser Asn	
645                                  650                                  655	
ggc gga ccg ggg atc agc aat gac ttc tta cct cat aaa gtc atg ctt	2781
Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met Leu	
660                                  665                                  670	
act agt cct att aag ctc atc aat ggt ttt gtc gct gat ccc tct aac	2829
Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser Asn	
675                                  680                                  685	
aac act gga cag agc gag atg cta cag ctt gaa aac ggt ggt tac atg	2877
Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr Met	
690                                  695                                  700                                  705	
gat gaa tct aaa ctc gaa acc agt tct ggt cat tgc cct gaa tca gct	2925
Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser Ala	
710                                  715                                  720	
cac caa tat gag aat gga aat ggt cga tgt ttc tct aag gaa tct gaa	2973
His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser Glu	
725                                  730                                  735	
tct tgt agc agt tca caa gct agc tca gaa ggt gga acc tta gaa atg	3021
Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu Met	
740                                  745                                  750	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

gag tca gag ctc aca gtt tca tct cat agg gaa gag gaa aaa gcc gag 3069  
 Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala Glu  
 755 760 765  
 ata gaa gta aaa gaa aca tca aag cca aat att ttg ctt gtg gaa gat 3117  
 Ile Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Asn Ile Leu Leu Val Glu Asp  
 770 775 780 785  
 aat aag atc aac atc atg gtt gca aag tcg atg atg aag cag tta ggc 3165  
 Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu Gly  
 790 795 800  
 cat acc atg gat att gct aat aat gga gtt gaa gcc ata acc gcg att 3213  
 His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala Ile  
 805 810 815  
 aat agc tct agc tac gat ctg gta ctc atg gtatgtaaat tttcttagct 3263  
 Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met  
 820 825  
 ctaaggactt gtccttttca aattcactta tatttgaaaa aggcttataa ttcatttgg 3323  
 gttcacag gat gtg tgc atg ccg gtg ctc gat ggt tta aaa gct aca 3370  
 Asp Val Cys Met Pro Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr  
 830 835 840  
 aga ctg atc cgt tcg tat gaa gaa act ggg aac tgg aat gct gca ata 3418  
 Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile  
 845 850 855  
 gaa gcc gga gta gat ata tcg aca tcg gag aat gaa caa gtt tgt atg 3466  
 Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met  
 860 865 870

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

cgt ccc aca aac cgg ctg cct ata atc gcg gtcagtactt ctttttcgaa 3516  
 Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile Ile Ala

875

880

tactaaacac agagatctaa tgcataactt gagaaaactg atagtcagaa tgcgttgtgg 3576  
 aatgtgcag atg acg gca aat act tta gca gag agt tca gaa gaa tgt 3624

Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys

885

890

895

tat gca aat ggt atg gac tcg ttt att tcg aaa cct gta acg ttg caa 3672  
 Tyr Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln

900

905

910

aaa ctg aga gag tgt ttg caa cag tat ttg cac tga 3708  
 Lys Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His

915

920

< 2 1 0 > 6

< 2 1 1 > 9 2 2

< 2 1 2 > PRT

< 2 1 3 > Arabidopsis thariana

< 2 2 3 > Amino acid sequence of histidine protein kinase

< 4 0 0 > 6

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu

1

5

10

15

Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys

20

25

30

Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu

35

40

45

Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn

50

55

60

3 6 / 4 3

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val  
65 70 75 80  
Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu  
85 90 95  
Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu  
100 105 110  
Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn  
115 120 125  
Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln  
130 135 140  
Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu  
145 150 155 160  
Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu  
165 170 175  
Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys  
180 185 190  
Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln  
195 200 205  
Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile  
210 215 220  
Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp Leu Arg  
225 230 235 240  
Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln Asp Ile  
245 250 255  
Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys Glu  
260 265 270

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser Lys  
275 280 285

Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe Leu  
290 295 300

Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly Ile  
305 310 315 320

Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg Glu Lys  
325 330 335

Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met Glu Ser  
340 345 350

Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys  
355 360 365

Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly  
370 375 380

Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu  
385 390 395 400

Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu  
405 410 415

Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser Gly Val  
420 425 430

Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His  
435 440 445

Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu  
450 455 460

Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp Val Leu  
465 470 475 480

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile Lys Phe  
485 490 495

Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro  
500 505 510

Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu His Glu  
515 520 525

Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp  
530 535 540

Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys  
545 550 555 560

Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr  
565 570 575

Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met Gly Gly  
580 585 590

Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Asn Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe  
595 600 605

Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln  
610 615 620

Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr  
625 630 635 640

Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser  
645 650 655

Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met  
660 665 670

Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser  
675 680 685

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr  
690 695 700

Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser  
705 710 715 720

Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser  
725 730 735

Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu  
740 745 750

Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala  
755 760 765

Glu Ile Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Asn Ile Leu Leu Val Glu  
770 775 780

Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu  
785 790 795 800

Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala  
805 810 815

Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys Met Pro  
820 825 830

Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu  
835 840 845

Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr  
850 855 860

Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile  
865 870 875 880

Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr  
885 890 895

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys

900

905

910

Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His

915

920

< 2 1 0 > 7

< 2 1 1 > 32

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 3 3 > Primer No. 163

< 4 0 0 > 7

cgcggatcca ccatggtctg tgaaatggag ac

32

< 2 1 0 > 8

< 2 1 1 > 32

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 3 3 > Primer No. 154

< 4 0 0 > 8

ccgctcgagt cagtgcaaact actgttgcaa ac

32

< 2 1 0 > 9

< 2 1 1 > 31

< 2 1 2 > DNA

**THIS PAGE BLANK (USPIC,**



< 2 1 3 > Artificial sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 3 3 > Primer No. 177

< 4 0 0 > 9

ggggtacctc agtgcaaata ctgttgcaaa c

31

< 2 1 0 > 10

< 2 1 1 > 33

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 3 3 > Primer No. 271

< 4 0 0 > 10

tacccggggg tacggtcgac ctgcaggcat gcc

33

< 2 1 1 > 11

< 2 1 1 > 32

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 3 3 > Primer No. 272

< 4 0 0 > 11

aaacgacggc cagtgaattc gagttcggca cc

32

**THIS PAGE BLANK (USPTO,**

< 2 1 0 > 12

< 2 1 1 > 31

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 3 3 > Primer No. 162

< 4 0 0 > 12

cgcgatcca ccatgcttga ggcgagtact g

31

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05772

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>7</sup> C12N15/54, C12N9/12, C12N5/14, A01H5/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>7</sup> C12N15/54, C12N9/12, C12N5/14		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MEDLINE (STN) Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Tatsuo KAKIMOTO, "CKI1, a Histidine Kinase Homolog Implicated in Cytokinin Signal Transduction", Science, Vol.274, pp.982-985, (1996)	1-12
A	Ingrid B. et al., "Two genes with Similarity to Bacterial Response Regulators are rapidly and specifically induced by Cytokinin in Arabidopsis", The Plant Cell, Vol.10, pp.1009-1019, (1998)	1-12
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 November, 2000 (20.11.00)		Date of mailing of the international search report 28 November, 2000 (28.11.00)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office  Facsimile No.		Authorized officer  Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/54, C12N9/12, C12N5/14, A01H5/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/54, C12N9/12, C12N5/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)  
MEDLINE (STN) Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Tatsuo Kakimoto, "CKI1, a Histidine Kinase Homolog Implicated in Cytokinin Signal Transduction", Science, Vol. 274, p. 982-985, (1996)	1-12
A	Ingrid B. et al., "Two genes with Similarity to Bacterial Response Regulators are rapidly and specifically induced by Cytokinin in Arabid opsis", The Plant Cell, Vol. 10, p. 1009-1019, (1998)	1-12

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 20.11.00

国際調査報告の発送日 28.11.00

国際調査機関の名称及びあて先  
日本国特許庁 (ISA/JP)  
郵便番号 100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
甲斐 順子 印

4N 9641

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



発信人 日本国特許庁 (国際予備審査機関)

出願人代理人

石田 敬

股

あて名

〒 105-8423

東京都港区虎ノ門3丁目5番1号

虎ノ門37森ビル

青和特許法律事務所

PCT

国際予備審査報告の送付の通知書

(法施行規則第57条)

(PCT規則71.1)

発送日  
(日.月.年)

25.12.01

出願人又は代理人  
の書類記号

H782-PCT

重要な通知

国際出願番号

PCT/JP00/05772

国際出願日

(日.月.年) 25.08.00

優先日

(日.月.年) 26.08.99

出願人 (氏名又は名称)

サントリー株式会社

1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。

2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。

3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告 (付属書類を除く) の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。

## 4. 注 意

出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に (官庁によってはもっと遅く) 所定の手続 (翻訳文の提出及び国内手数料の支払い) をしなければならない (PCT3.9条(1)) (様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照)。

国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。

この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。

選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第II巻を参照すること。

名称及びあて名

日本国特許庁 (IPEA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員

特 許 庁 長 官

4N 2937

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

**THIS PAGE BLANK**

## 注 意

### 1. 文献の写しの請求について

国際予備審査報告に記載された文献であって国際調査報告に記載されていない文献の複写

特許庁にこれらの引用文献の写しを請求することもできますが、独立行政法人工業所有権総合情報館（特許庁庁舎2階）で公報類の閲覧・複写および公報以外の文献複写等の取り扱いをしています。

〔担当及び照会先〕

〒100-0013 東京都千代田区霞が関3丁目4番3号（特許庁庁舎2階）

独立行政法人工業所有権総合情報館

【公報類】 閲覧部 TEL 03-3581-1101 内線3811～2

【公報以外】 資料部 TEL 03-3581-1101 内線3831～3

また、（財）日本特許情報機構でも取り扱いをしています。

これらの引用文献の複写を請求する場合は下記の点に注意してください。

〔申込方法〕

（1）特許（実用新案・意匠）公報については、下記の点を明記してください。

○特許・実用新案及び意匠の種類

○出願公告又は出願公開の年次及び番号（又は特許番号、登録番号）

○必要部数

（2）公報以外の文献の場合は、下記の点に注意してください。

○国際予備審査報告の写しを添付してください（返却します）。

〔申込み及び照会先〕

〒135-0016 東京都江東区東陽4-1-7 佐藤ビル

財団法人 日本特許情報機構 情報処理部業務課

TEL 03-3508-2313

注） 特許庁に対して文献の写しの請求をすることができる期間は、国際出願日から7年です。

2. 各選択官庁に対し、国際出願の写し（既に国際事務局から送達されている場合は除く）及びその所定の翻訳文を提出し、国内手数料を支払うことが必要となります。その期限については各国ごとに異なりますので注意してください。（条約第22条、第39条及び第64条(2)(a)(i)参照）

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

PCT


I.P.E.R.

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
(PCT36条及びPCT規則70)

出願人又は代理人 の書類記号 H782-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/05772	国際出願日 (日.月.年) 25.08.00	優先日 (日.月.年) 26.08.99
国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>1</sup> Cl2N 15/54, 9/12, 5/14, A01H 5/00		
出願人 (氏名又は名称) サントリー株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>3</u> ページからなる。  <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で <u>                    </u> ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎  II <input type="checkbox"/> 優先権  III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成  IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如  V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明  VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献  VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備  VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 13.03.01	国際予備審査報告を作成した日 21.12.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員)  平田 和男 	4N 2937
電話番号 03-3681-1101 内線 3488		

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1 - 12	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1 - 12	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1 - 12	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明（PCT規則70.7）

文献1：蛋白質 核酸 酵素, Vol. 42, No. 5 (1997) p. 727-735

請求の範囲 1-12

請求の範囲 1-12 に記載された発明は、見解書で新たに引用された上記文献1に対して進歩性を有しない。

上記文献1には、サイトカインの情報伝達に関与する変異体をアクティベーションタギング法によりスクリーニングして、T-DNAが挿入された2種のCKI変異体（CKI1変異体及びCKI2変異体）を取得し、さらにCKI1変異体から遺伝子CKI1を単離している旨記載されている。

請求の範囲1に記載の発明と上記文献1に記載の発明を対比すると、請求の範囲1に記載の発明では遺伝子CKI2を単離している一方、上記文献1では単離されていない点で相違するが、アクティベーションタギング法により同時に得られた2種の変異体のうち、一方のCKI1変異体から遺伝子CKI1を単離していれば、もう一方のCKI2変異体から遺伝子CKI2を単離することは当業者であれば容易に想到しうるものである。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# PATENT COOPERATION TREATY

**PCT**

From the INTERNATIONAL BUREAU

## NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:  
ISHIDA, Takashi  
A. Aoki, Ishida & Associates  
Toranomon 37 Mori Building  
5-1, Toranomon 3-chome  
Minato-ku  
Tokyo 105-8423  
JAPON

45

Date of mailing (day/month/year) 08 March 2001 (08.03.01)		<b>IMPORTANT NOTICE</b>	
Applicant's or agent's file reference H782-PCT			
International application No. PCT/JP00/05772	International filing date (day/month/year) 25 August 2000 (25.08.00)	Priority date (day/month/year) 26 August 1999 (26.08.99)	
Applicant SUNTORY LIMITED et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AU,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

CA,EP,JP,NZ

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 08 March 2001 (08.03.01) under No. WO 01/16332

### REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 18 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 18-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

### REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

<p style="text-align: center;">The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No. (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer</p> <p style="text-align: center;">J. Zahra</p> <p>Telephone No. (41-22) 338.83.38</p>
---	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 特許協力条約に基づく国際出願願書

H782-PCT

原本（出願用） - 印刷日時 2000年08月28日 (28. 08. 2000) 月曜日 16時27分17秒

0	受理官庁記入欄	
0-1	国際出願番号	
0-2	国際出願日	
0-3	(受付印)	
0-4	様式-PCT/RO/101 この特許協力条約に基づく国際出願願書は、 右記によって作成された。	PCT-EASY Version 2.91 (updated 01. 07. 2000)
0-5	申立て 出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。	
0-6	出願人によって指定された受理官庁	日本国特許庁 (RO/JP)
0-7	出願人又は代理人の書類記号	H782-PCT
I	発明の名称	サイトカインの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子
II	出願人 この欄に記載した者は 右の指定国についての出願人である。	出願人である (applicant only) EP: (AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE); AU CA JP NZ
II-4ja	名称	サントリー株式会社
II-4en	Name	SUNTORY LIMITED
II-5ja	あて名:	530-8203 日本国 大阪府 大阪市北区 堂島浜2丁目1番40号
II-5en	Address:	1-40, Dojimahama 2-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-8203
II-6	国籍 (国名)	Japan
II-7	住所 (国名)	日本国 JP
III-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は 右の指定国についての出願人である。	出願人である (applicant only) AU JP NZ
III-1-4ja	名称	日本製紙株式会社
III-1-4en	Name	Nippon Paper Industries Co., Ltd.
III-1-5ja	あて名:	114-0002 日本国 東京都 北区 王子1丁目4番1号
III-1-5en	Address:	4-1, Oji 1-chome, Kita-ku, Tokyo 114-0002
III-1-6	国籍 (国名)	Japan
III-1-7	住所 (国名)	日本国 JP

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

III-2 III-2-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-2-2	右の指定国についての出願人である。	米国のみ (US only)
III-2-4ja III-2-4en III-2-5ja	氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	柿本 辰男 KAKIMOTO, Tatsuo 560-0005 日本国 大阪府 豊中市 西緑丘 2-2-2-2-2 3
III-2-5en	Address:	2-2-2-223, Nishimidorigaoka, Toyonaka-shi, Osaka 560-0005 Japan
III-2-6	国籍(国名)	日本国 JP
III-2-7	住所(国名)	日本国 JP
IV-1	代理人又は共通の代表者、通知のあて名 下記の者は国際機関において右記のごとく出願人のために行動する。	代理人 (agent)
IV-1-1ja IV-1-1en IV-1-2ja	氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	石田 敬 ISHIDA, Takashi 105-8423 日本国 東京都 港区虎ノ門 三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所
IV-1-2en	Address:	A. AOKI, ISHIDA & ASSOCIATES Toranomon 37 Mori Bldg., 5-1, Toranomon 3-chome, Minato-ku, Tokyo 105-8423 Japan
IV-1-3	電話番号	03-5470-1900
IV-1-4	ファクシミリ番号	03-5470-1911
IV-2	その他の代理人	筆頭代理人と同じあて名を有する代理人 (additional agent(s) with same address as first named agent)
IV-2-1ja IV-2-1en	氏名 Name(s)	鶴田 準一; 福本 積; 西山 雅也 TSURUTA, Junichi; FUKUMOTO, Tsumoru; NISHIYAMA, Masaya
V V-1	国の指定 広域特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
V-2	国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	AU CA JP NZ US

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## 特許協力条約に基づく国際出願願書

原本（出願用） - 印刷日時 2000年08月25日 (25. 08. 2000) 金曜日 17時02分42秒

H782-PCT

Y-5	指定の確認の宣言 出願人は、上記の指定に加えて、規則4.9(b)の規定に基づき、特許協力条約のもとで認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、Y-6欄に示した国の指定を除く。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。	
Y-6	指定の確認から除かれる国	なし (NONE)
VI-1	先の国内出願に基づく優先権主張	
VI-1-1	先の出願日	1999年08月26日 (26. 08. 1999)
VI-1-2	先の出願番号	特願平11-240433号
VI-1-3	国名	日本国 JP
VII-1	特定された国際調査機関 (ISA)	日本国特許庁 (ISA/JP)
VIII	照合欄	用紙の枚数
VIII-1	願書	4
VIII-2	明細書 (配列表を除く)	23
VIII-3	請求の範囲	2
VIII-4	要約	1
VIII-5	図面	6
VIII-6	明細書の配列表	43
VIII-7	合計	79
VIII-8	添付書類	添付
VIII-8	手数料計算用紙	✓
VIII-9	別個の記名押印された委任状	✓
VIII-15	計算機読取可能な媒体によるフォーマット及び/又はアミノ酸配列リスト	別個のフレキシブルディスク
VIII-16	PCT-EASYディスク	-
VIII-17	その他	納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面
VIII-17	その他	陳述書
VIII-17	その他	フレキシブルディスクの記録形式等の情報を記載した書面
VIII-18	要約書とともに提示する図の番号	
VIII-19	国際出願の使用言語名:	日本語 (Japanese)
IX-1	提出者の記名押印	
IX-1-1	氏名 (姓名)	石田 敬
IX-2	提出者の記名押印	
IX-2-1	氏名 (姓名)	鶴田 準一

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 特許協力条約に基づく国際出願願書

K782-PCT

原本（出願用） - 印刷日時 2000年08月25日（25. 08. 2000）金曜日 17時02分42秒

IX-3	提出者の記名押印		
IX-3-1	氏名(姓名)	福本 積	
IX-4	提出者の記名押印		
IX-4-1	氏名(姓名)	西山 雅也	

## 受理官庁記入欄

10-1	国際出願として提出された書類の実際の受理の日	
10-2	図面：	
10-2-1	受理された	
10-2-2	不足図面がある	
10-3	国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であってその後期間内に提出されたものの実際の受理の日（訂正日）	
10-4	特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
10-5	出願人により特定された国際調査機関	ISA/JP
10-6	調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

## 国際事務局記入欄

11-1	記録原本の受理の日	
------	-----------	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**